



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS
MÉRIDA - VENEZUELA



**ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS
EXTRACTOS DE LAS PARTES AÉREAS DE *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.)**

I.M. Johnst

**Trabajo de Grado presentado como requisito para optar por el título de
Licenciada en Bioanálisis**

Autora:

Br. Gabriela Castellano

Tutora:

Dra. Marielba Morillo

Cotutora:

Dra. Janne Rojas

Mérida, Marzo de 2021

Dedicatoria

A Dios principalmente, por guiar y bendecir mi camino, permitiéndome llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi madre María Teresa, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, su sacrificio, su paciencia, por la motivación constante que me ha permitido llegar hasta aquí y obtener uno de los anhelos mas deseados, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Rafael, que a pesar de todo siempre ha estado a nuestro lado.

A mi hermana Daniela, por su cariño, confianza y porque siempre he contado con ella para todo.

www.bdigital.ula.ve

Agradecimientos

A Dios en primer lugar, por brindarme salud, fortaleza y capacidad; y a mis padres y familia por todo el apoyo que necesite para llegar hasta este momento.

A la Ilustre Universidad de Los Andes, en especial a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, que es mi segunda casa, gracias por permitirme cumplir esta meta, junto a los mejores profesores, técnicos y compañeros.

Al Departamento de Ciencia de Los Alimentos y al Departamentos de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por haberme permitido realizar esta investigación en sus instalaciones.

Al Instituto de Investigaciones, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, al Prof. Luis Rojas, Director del Instituto, por habeme permitido realizar el estudio fitoquímico cualitativo de este trabajo de investigación, en el Laboratorio de Productos Naturales.

A mi tutora la profesora Marielba Morillo, le agradezco profundamente por aceptarme y darme el privilegio de ser su tesista, por su confianza, paciencia, bondad, dedicación, compromiso, por brindarme sus valiosos conocimientos, y quien con su dirección, enseñanza y colaboración permitió el desarrollo de esta investigación.

A mi cotutora la profesora Janne Rojas y a la profesora María Eugenia Rondón, por los conocimientos aportados, su atención, dedicación y apoyo brindados en este trabajo de grado.

Al profesor Tomás Visbal, por su colaboración en la realización de esta investigación, enriqueciéndola con sus conocimientos.

A la Dra. Rosa Aparicio por la colaboración brindada en la obtención de los extractos utilizados para esta investigación.

Al Ingeniero Juan Carmona por haber realizado la identificación botánica del material vegetal.

Índice de Contenidos

Contenido	Pág
Índice de Figuras	viii
Índice de Tablas	ix
Índice de Gráficos	xi
Resumen	xii
Introducción	1
Capítulo I	
El problema	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la investigación	6
Objetivos de la investigación	8
Objetivo general	8
Objetivos específicos	8
Alcances y limitaciones de la investigación	9
Capítulo II	
Marco Teórico	10
Trabajos previos	10
Antecedentes históricos	20
Familia Euphorbiaceae	23
Características botánicas de la familia Euphorbiaceae	23
Distribución de la familia Euphorbiaceae	25
Usos de la familia Euphorbiaceae	25
Actividad farmacológica de la familia Euphorbiaceae	26
Composición química de la familia Euphorbiaceae	28
Género <i>Cnidoscolus</i>	30
Características botánicas del género <i>Cnidoscolus</i>	31
Distribución del género <i>Cnidoscolus</i>	32
Usos del género <i>Cnidoscolus</i>	32

Actividad farmacológica del género <i>Cnidoscolus</i>	33
Composición química del género <i>Cnidoscolus</i>	34
Especie <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	36
Características botánicas de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	37
Distribución geográfica de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	39
Usos de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	39
Actividad farmacológica de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	40
Composición química de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	41
Productos naturales	46
Metabolitos secundarios	46
Triterpenos	47
Compuestos fenólicos	48
Quinonas	49
Cumarinas	49
Flavonoides	50
Taninos	51
Ligninas	52
Glucósidos	53
Alcaloides	53
Extracto vegetal	54
Obtención de los extractos vegetales	55
Extracción continua	55
Maceración	56
Percolación	56
Decocción	56
Infusión	57
Digestión	57
Estudio fitoquímico	57
Ensayo de Liebermann–Burchard	58
Ensayo de Dragendorff	58

Ensayo de Wagner y Mayer	58
Ensayo de Cloruro Férrico	58
Ensayo de Shinoda	59
Ensayo de la espuma	59
Ensayo de la gelatina	59
Ensayo del hidróxido de amonio	59
Determinación del contenido de polifenoles totales en el extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Cnidocolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	60
Método Folin–Ciocalteu para la determinación de polifenoles	61
Actividad Antioxidante de los extractos de las partes aéreas de <i>Cnidocolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst por el método DPPH	62
Toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Cnidocolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst frente a <i>Artemia salina</i>	65
Definición operacional de términos	67
Definición operacional de las variables de la investigación	68
Hipótesis	70
Hipótesis Nula	70
Capítulo III	
Marco Metodológico	71
Tipo de investigación	71
Diseño de investigación	71
Población y muestra	72
Instrumento de recolección de datos	73
Procedimientos de la investigación	73
Recolección del material vegetal	73
Preparación de los extractos vegetales	74
Tamizaje fitoquímico	75
Determinación de fenoles totales por el método Folin- Ciocalteu	78
Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH	80
Evaluación de toxicidad frente a Nauplios de <i>Artemia salina</i>	82

Capítulo IV	
Resultados y discusión	86
Capítulo V	
Conclusiones	109
Recomendaciones	110
Referencia bibliográficas	111

www.bdigital.ula.ve

Índice de Figuras

Figuras	Pág
Figura 1. Estructura química de la quercetina y ácido gálico reportados en especies de la familia Euphorbiaceae	29
Figura 2. Estructura química de algunos compuestos aislados en especies de la familia Euphorbiaceae	30
Figura 3. Estructura de la apigenina y el lupeol aislados en especies del género <i>Cnidoscolus</i>	35
Figura 4. Arbusto de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	38
Figura 5. Estructuras químicas de algunos compuestos aislados en <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	44
Figura 6. Estructuras química del estigmasterol	48
Figura 7. Estructura química del compuesto gingerol	48
Figura 8. Estructura química de la <i>p</i> -Benzoquinona	49
Figura 9. Estructura química del <i>p</i> -soraleno	50
Figura 10. Estructura química de las isoflavonas	51
Figura 11. Estructura química del floroglucinol	52
Figura 12. Estructura química del alcohol cumarílico	52
Figura 13. Estructura química de la arbutina	53
Figura 14. Estructura química de la coníina	54
Figura 15. Reacción química Folin Ciocalteau	62
Figura 16. Reacción química entre el radical DPPH y una molécula antioxidante	65
Figura 17. Artrópodo <i>Artemia Salina</i>	67
Figura 18. Obtención de los extractos de las partes aéreas de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	74
Figura 19. Estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	87

Índice de Tablas

Tabla	Pág
Tabla 1. Taxonomía de la familia Euphorbiaceae	25
Tabla 2. Especies de la familia Euphorbiaceae y sus usos en medicina popular	28
Tabla 3. Taxonomía del género <i>Cnidoscolus</i>	32
Tabla 4. Taxonomía de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst	37
Tabla 5. Taxonomía de la especie <i>Artemia salina</i>	66
Tabla 6. Definición operacional de las variables de la investigación	69
Tabla 7. Diferentes concentraciones de ácido gálico, con la que se construyó la curva de calibración	79
Tabla 8. Diluciones empleadas para preparar la solución madre a una concentración 1 mg/mL	81
Tabla 9. Diluciones empleadas para realizar la curva patrón de ácido ascórbico	81
Tabla 10. Composición del agua de mar artificial, usada en el cultivo y eclosión de los quistes de <i>Artemia salina</i>	83
Tabla 11. Clasificación de toxicidad según el CYTED	85
Tabla 12. Estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de <i>Cnidoscolus aconitifolius</i>	86
Tabla 13. Lectura de absorbancia de las distintas concentraciones de la solución de ácido gálico empleada como patrón	90
Tabla 14. Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	91
Tabla 15. Estudio estadístico de la cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	94
Tabla 16. Análisis de varianza de ANOVA de la cuantificación de fenoles totales del xtracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	94
Tabla 17. Determinación del potencial antioxidante de los extractos de las	95

partes aéreas de *C. aconitifolius* a una concentración de 4 mg/mL por el método DPPH a 517 nm

Tabla 18. Curva patrón de ácido ascórbico	97
Tabla 19. Actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	98
Tabla 20. IC ₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	103
Tabla 21. Datos estadísticos de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	104
Tabla 22. Análisis de varianza ANOVA de una sola vía de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	105
Tabla 23. Cuantificación de la DL ₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i> y los controles frente a <i>Artemia salina</i>	106

www.bdigital.ula.ve

Índice de Gráficos

Gráfico	Pág
Gráfico 1. Curva de calibración del ácido gálico	91
Gráfico 2. Porcentaje de inhibición (% I) del ácido ascórbico	97
Gráfico 3. Porcentaje (%) de Inhibición del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i>	99
Gráfico 4. Porcentaje (%) de Letalidad del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>C. aconitifolius</i> frente a <i>Artemia salina</i> a las concentraciones probadas en unidades de ppm ($\mu\text{g/mL}$)	106

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS
MÉRIDA - VENEZUELA



**ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS
EXTRACTOS DE LAS PARTES AÉREAS DE *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.)
I.M. Johnst**

Trabajo de Grado

**Realizado por:
Br. Gabriela Castellano**

Tutora: Dra. Marielba Morillo

RESUMEN

Se obtuvieron los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico, de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, familia Euphorbiaceae y se realizó el estudio fitoquímico de los mismos. Se llevo a cabo la cuantificación de polifenoles totales en el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* por el metodo de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante (método DPPH), además se evaluó la toxicidad del extracto etanólico de las mismas sobre *Artemia salina*. En los extractos hexanoico y diclorometanoico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, se determinó la presencia de esteroides; y en el etanólico alcaloides, esteroides, polifenoles, terpenos, flavonoides y taninos. Por otro lado, el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* mostró un contenido de compuestos fenólicos de 0,945 μg AG/mg. El extracto etanólico de *C. aconitifolius* de las partes aéreas, fue el que presentó mayor actividad antioxidante de los tres extractos, con un porcentaje de inhibición de 37,4 % a la concentración de 1 mg/mL, y una IC_{50} de 1,51 mg/mL. En cuanto a la toxicidad frente a *Artemia salina*, el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* mostró que el mismo, es relativamente inocuo, con un porcentaje de letalidad a la concentración más alta evaluada (2500 ppm) de 8,3 %. En general, los resultados obtenidos sugieren que los extractos de las partes aéreas de *C. aconitifolius* podrían ser una alternativa para ser usados en la producción de fármacos a futuro, debido al potencial que presentan en relación a la variedad de compuestos químicos, actividad antioxidante y su baja toxicidad.

Palabras claves:

Cnidoscolus aconitifolius, Euphorbiaceae, estudio fitoquímico, actividad biológica, *Artemia salina*.

INTRODUCCIÓN

La humanidad ha empleado las plantas medicinales para su beneficio desde hace miles de años, a través de la observación, la experiencia, y dependiendo de la diversidad vegetal de cada región; desarrollando diversas técnicas para obtener compuestos a partir de ellas y aplicarlos específicamente en el tratamiento de una gran variedad de afecciones (Albornoz, 2001).

Es por esto que, en las diferentes partes de las plantas conocidas tradicionalmente como medicinales se han determinado constituyentes químicos que les confieren varios tipos de actividad biológica, entre ellos antibacterianas, fungicidas, antioxidantes, antiinflamatorias, evidenciado en diversos estudios, y demostrando así las potencialidades terapéuticas que poseen las especies vegetales (Lapenna, Medina, Díaz, Aguilón y Marín, 2003).

De aquí que, actualmente son numerosas las investigaciones que han surgido en relación con el estudio fitoquímico y valoración de las actividades biológicas que pueden presentar una extensa variedad de especies pertenecientes al reino Plantae, ya que precisamente del material vegetal se obtienen más principios activos, de utilidad para la industria farmacéutica (Difurnó, Lorente, Frías, Ocaña y Ramírez, 2012).

La familia Euphorbiaceae, es una de las más representativas, conformada aproximadamente por 300 géneros, distribuidos mayormente en zonas tropicales. En cuanto a su morfología es variada, encontrándose árboles, arbustos, lianas y hasta hierbas, siendo característica la presencia de látex. Así mismo, por su elevada biodiversidad, que proporcionan las especies de esta familia alrededor del mundo, son

muchos los usos: medicinales, obtención de ceras, aceites, caucho, otros materiales industriales y como alimento. Algunas de las plantas más reconocidas son: el árbol del caucho (*Hevea brasiliensis*), la yuca (*Manihot esculenta* L.), el ricino (*Ricinus communis*) y la rosa de Navidad (*Euphorbia pulcherrima*) (Martínez, 2014).

En relación a lo anterior, el género *Cnidoscolus* perteneciente a esta familia, está compuesto por unas 50 especies, distribuidas en zonas tropicales y subtropicales, es un género estudiado mundialmente, debido a las propiedades medicinales por las cuales es conocido, además especies como *C. chayamansa* y *C. aconitifolius* tienen cierto valor nutricional, por lo que constituyen también una fuente de alimento en algunos países (Jiménez, García y Rojas, 2014).

Específicamente la especie *C. aconitifolius*, reconocida popularmente como Chaya en América latina, es considerada medicinal sobre todo en países como México y Guatemala, siendo utilizada para tratar una gran variedad de enfermedades, ya que, posee ciertos constituyentes químicos a los cuales se les atribuye sus propiedades curativas (Jiménez y col., 2014).

El objetivo de esta investigación es confirmar la relación que existe entre la composición química y la actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*.

CAPÍTULO I

El problema

Planteamiento del problema

Las plantas medicinales constituyen una gran fuente de productos naturales, que poseen una estructura molecular y una acción biológica determinada, de aquí que, son diversos los géneros y especies pertenecientes a la familia Euphorbiaceae que han sido estudiados por las propiedades medicinales que se les atribuyen, determinando cuáles son los metabolitos secundarios presentes en ellas, generalmente a través de sus extractos orgánicos, para evaluar la actividad antibacteriana y la capacidad potenciadora sobre otros antibióticos, debido a que actualmente, un aspecto importante en materia de salud es la multirresistencia a los fármacos que están desarrollando diversos microorganismos, generando la necesidad a nivel farmacéutico de crear nuevos antibióticos de origen vegetal (Seebaluck, Lall, Fibrich, Blom van Staden y Mahomoodally, 2017).

Otros tipos de actividades farmacológicas, han sido investigadas dentro de esta familia, dado es el caso de la actividad antioxidante, al evaluar a través de diversos métodos los componentes químicos presentes en las plantas, determinando cuales son antioxidantes, siendo importante ya que, estos previenen daños a las biomoléculas del organismo que provocan los radicales libres, al neutralizarlos mediante diferentes mecanismos, evitando así que desencadenen el denominado estrés oxidativo, el cual puede generar diversas patologías (Martínez, 2014).

Así mismo, se han realizado investigaciones en especies de la familia Euphorbiaceae cuyas partes aéreas son venenosas, pero popularmente conocidas

como curativas, empleadas contra virus, bacterias, hongos, en el tratamiento de la gonorrea, migrañas, parásitos gástricos, verrugas; le han determinado su composición química, evaluado su actividad antibacteriana y antioxidante, comprobando así sus potencialidades en el área de la salud (Zeghad, Djilani, y Dicko, 2016).

Diversos estudios indican que el género *Cnidoscolus*, perteneciente a esta familia, cuenta en general con constituyentes como terpenos, alcaloides, flavonoides, taninos, entre otros, aislados de algunas de sus partes como raíces, cortezas, tallos o partes aéreas, presentando también compuestos tóxicos (Jiménez y col., 2014).

Aunado a esto, exponen que desde el punto de vista etnobotánico algunas especies de este género son reconocidas por sus efectos medicinales, ya que en ciertas regiones se emplean en el tratamiento de afecciones como: diabetes mellitus, hemorroides, arterosclerosis, cálculos en los riñones, dolores dentales, infecciones vaginales, acné, dolor de espalda y hasta el cáncer, por lo que el estudio de sus metabolitos secundarios constituye una línea de investigación que actualmente tiene gran relevancia (Jiménez y col., 2014).

A la especie *Cindoscolus aconitifolius*, se le atribuye algunas propiedades curativas como normotensiva, hipoglucemiante, diuréticas, aspecto que ha despertado el interés en la realización de investigaciones sobre su composición química, revelando la presencia de ácidos grasos, terpenos, aminoácidos, fenoles, entre otros, por lo que es de utilidad para la medicina en general determinar qué tipo de constituyentes están presentes en cada espécimen, así como también que clase de actividad biológica puedan presentar, para desarrollar sus potencialidades

adecuadamente en el campo farmacéutico y contribuir así, en el tratamiento de diversas afecciones (Jaramillo, García, Cuesta, Campo y García, 2015).

A partir de lo expuesto, es adecuado decir que en la presente investigación se pretende averiguar:

¿Cuál es la composición química de los extractos obtenidos a partir de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*?

¿Cuál es el contenido de polifenoles totales del extracto etanólico, obtenidos a partir de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*?

¿Cuál es el valor antioxidante de los extractos obtenidos a partir de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*?

¿Qué tan relevante es la toxicidad frente a *Artemia salina* del extracto etanólico, obtenido a partir de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*?

Justificación e importancia de la investigación

En relación a lo mencionado anteriormente, es innegable el uso medicinal que tradicionalmente se les ha dado a las plantas a lo largo del tiempo, gracias a la interacción de la humanidad con estas en la búsqueda de bienestar, muchas veces utilizándolas sin comprender sus efectos, pero encontrando grandes beneficios (Heisler y col., 2015).

Por lo que, es necesario respaldar científicamente esa aplicación, ya que, pese a los innumerables avances tecnológicos, las plantas siguen teniendo gran relevancia en cuanto a la obtención de principios activos, además cabe resaltar el hecho de que existen miles de especies vegetales a nivel mundial, como es el caso de la extensa variedad de plantas encontradas en la región andina, de aquí que, es necesario seguir investigando el mayor número posible de especímenes, y de esta manera, expandir el abanico de opciones para el tratamiento de diversas enfermedades, al implementarlas como fitofármacos o como componente preliminar para desarrollar otro tipo de medicamentos en el campo farmacéutico (Heisler y col., 2015).

En el mismo orden de ideas, es importante señalar la multiresistencia que están desarrollando las bacterias frente a un gran número de antibióticos, aspecto que motiva a continuar realizando investigaciones en plantas medicinales para desarrollar fármacos más eficientes y eficaces en el tratamiento de las infecciones causadas por estas (Rampadarath, Puchooa y Jeewon, 2016).

Así mismo, otro aspecto a considerar en relación a innovación farmacológica es la actividad antioxidante atribuida a especies de la familia Euphorbiaceae, entre las que se encuentra *Cnidocolus aconitifolius*, y que es significativa para evitar el estrés

oxidativo, que se relaciona con el desarrollo de enfermedades como la arterioesclerosis, artritis, el cáncer y la demencia, siendo importante también, evaluar la toxicidad que puedan presentar las plantas, para caracterizar correctamente los componentes con propiedades curativas, razones por las cuales esta investigación tiene relevancia y se justifica la realización de la misma (Martínez, 2014).

www.bdigital.ula.ve

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Confirmar la relación que existe entre la composición química y la actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M Johnst.

Objetivos específicos

- Determinar la composición química de los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*.
- Cuantificar el contenido de polifenoles totales en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*.
- Confirmar la actividad antioxidante de los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius* por el método DPPH.
- Valorar la toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius* frente a *Artemia salina*.

Alcances y limitaciones de la investigación

En cuanto, al alcance de la investigación, este nos muestra los resultados que se esperan, dependiendo de la perspectiva de la misma, por lo que en la presente viene a ser, realizar el estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius* y comprobar su actividad biológica (Hernández, Fernández y Baptista, 2010).

Sin embargo, debido al alto costo de la vida en el país, las universidades no escapan de esta realidad, teniendo como resultado investigaciones limitadas, es por esto que podemos afirmar que la mayor limitante presentada fue la adquisición de algunos reactivos, fallas constantes de la electricidad y los gastos que implican la materialización de este trabajo de investigación (impresiones, transporte, entre otros).

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

Marco teórico

Trabajos previos

Somade, Akinloye, Ugbaja e Idowu (2020), investigaron el potencial de mejora que ofrecía *Cnidoscopus aconitifolius* (400 mg/kg) comparando con ascorbato (400 mg/kg), en clastogenicidad y hepatotoxicidad, inducida por dimetilnitrosamina (DMN). La hepatotoxicidad se evaluó mediante determinación de los niveles de glutatión reducido (GSH) y malondialdehído (MDA), así como actividades de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), gamma glutamiltransferasa (GGT), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión S-transferasa (GST) y glutatión peroxidasa (GPx), mientras que la clastogenicidad se evaluó puntuando el número de eritrocitos policromáticos micronucleados (mPCE) en la médula de hueso. El análisis por cromatografía de gas acoplada a espectrofotometría de masas (GCMS) del extracto de *Cnidoscopus aconitifolius*, reveló la presencia de fenoles, ácidos grasos esenciales, caroteno, compuestos ricos en silicio y también posee fuertes potenciales de eliminación de radicales libres in vitro, comparables al ascorbato. Por otra parte, el daño hepático inducido por DMN, marcado por niveles elevados de MDA y GSH, así como las actividades de ALT, AST, GGT y GST, fueron reducidas significativamente por *Cnidoscopus aconitifolius* y tratamientos con ascorbato, mientras que reducciones significativas en las actividades de CAT, SOD y GPx como resultado de la administración de DMN, se restablecieron después de los tratamientos con *Cnidoscopus aconitifolius* y ascorbato. Además, un aumento significativo en la formación de los micronúcleos inducidos por

DMN se redujo significativamente después de *Cnidoscolus aconitifolius* y tratamientos con ascorbato. La histopatología de hepatocitos reveló grave necrosis centrolobulillar difusa y figuras mitóticas extrañas, que fueron corregidos por *Cnidoscolus aconitifolius* y tratamientos con ascorbato. En general, el ascorbato demuestra mejor efecto *in vitro*, mientras que en un estudio *in vivo*, los extractos de *C. aconitifolius* demuestran unos efectos mejores que el ascorbato en los parámetros investigados. Por lo tanto, el uso terapéutico de la planta puede ser un enfoque prometedor.

Godínez, Chávez, Guzmán y García (2019), realizaron un análisis comparativo sobre el contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales y la capacidad antioxidante por varios métodos, DPPH (captación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno), TEAC (capacidad antioxidante equivalente al Trolox) y FRAP (poder antioxidante reductor ferrico), en extractos de metanol-agua (50:50 y 80:20) y de etanol-agua (50:50 y 80:20) provenientes de hojas crudas y hervidas de *Cnidoscolus aconitifolius*. Además, se identificaron y cuantificaron compuestos fenólicos de cada uno de los extractos mediante el método RP-HPLC-DAD (Cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa de par iónico, acoplada a un detector de diodos). Como resultados identificaron y cuantificaron 11 compuestos fenólicos en la especie *C. aconitifolius*: ácido gálico (1) (Figura 1), ácido vanílico (2), vainillina (3), ácido clorogénico (4), ácido cafeico (5), ácido ferúlico (6) (Figura 5), ácido rosmarínico (7), ácido *p*-cumárico (8), resveratrol (9), luteolina (10) y apigenina (11) (Figura 3). En general, el extracto obtenido por la decocción de las hojas mostró una mayor

capacidad antioxidante que las hojas crudas. Se observaron diferencias en el contenido de compuestos fenólicos debido al tipo de solvente y mezcla utilizada, siendo el extracto etanólico 80:20 proveniente de la decocción de las hojas de *C. aconitifolius* el que mostró mayor contenido de polifenoles, a través del método Folin-Ciocalteu. En cuanto a la capacidad antioxidante se realizaron los ensayos (DPPH, ORAC, TEAC, FRAP) a los extractos hidroalcohólicos (metanólico 50:50 v/v, 80:20 v/v, y etanólico 50:50 v/v, 80:20 v/v, cada uno crudo y hervido). El extracto que mostró la mayor capacidad antioxidante medida por los métodos DPPH y FRAP fue el extracto de etanol-agua (80:20 v/v) de las hojas hervidas. Así mismo, el extracto de metanol-agua (80:20 v/v) de las hojas hervidas mostró la mayor capacidad antioxidante usando los métodos TEAC y ORAC. En general, el disolvente que extrajo la mayoría de los compuestos fenólicos fue etanol-agua en una proporción de 80:20 (v/v). El tratamiento térmico utilizado eliminó el glucósido cianogénico, sin afectar negativamente el contenido de compuestos fenólicos totales, o los fenoles identificados por HPLC-DAD, mientras se descubrió que mejoraba el proceso de extracción. Los autores concluyeron que *C. aconitifolius* es una excelente fuente de antioxidantes naturales, refiriendo al mismo tiempo que, el presente estudio aumenta el conocimiento de los fenoles existentes en esta especie, lo que permite una comprensión y justificación más completa de los posibles efectos terapéuticos de la chaya, aunque señalan la necesidad de realizar una mayor cantidad de estudios tanto *in vivo* como *in vitro*.

Moura y col. (2019), recopilaron los estudios sobre las aplicaciones fitoquímicas, etnofarmacológicas y biotecnológicas del género *Cnidocolus*, desde 1998 hasta

2017. Entre los sesenta y un estudios informados en esta revisión, diez especies son utilizadas popularmente para aplicaciones farmacológicas y/o biotecnológicas. *Cnidoscolus aconitifolius* y *Cnidoscolus chayamansa*, son las especies más citadas, que también fueron apoyadas por investigaciones en animales o células que indican algunas acciones farmacológicas beneficiosas como antioxidante, antiinflamatorio y potencial actividad citotóxica. Las partes de la planta de este género en estudio son importantes como fuentes para el aislamiento e identificación de moléculas bioactivas con aplicaciones biotecnológicas, ya que son muchas las enfermedades tratadas con esta fitoterapia. Dados estos veredictos, los enfoques etnofarmacológicos son herramientas sistemáticas significativas en la determinación de especies de plantas que exhiben propósitos medicinales y nutricionales. Los resultados presentados aquí deberían estimular aún más el desarrollo de estudios de validación para garantizar el uso seguro y efectivo de estas especies de plantas. Los autores concluyeron, que, en los últimos diez años, algunos grupos de investigación han informado sobre efectos terapéuticos de extractos obtenidos de diferentes partes de *Cnidoscolus spp.*, principalmente de la hoja, y lo más interesante, de sus residuos industriales, estos productos son abundantes y económicos, no solo son fuentes prometedoras de moléculas bioactivas para el desarrollo de nuevos antidiabéticos, antimicrobianos, antiinflamatorios y fármacos antiproliferativos, pero también grandes matrices para obtener antioxidantes naturales e ingredientes funcionales para la protección del cuerpo y los alimentos. El aislamiento de nuevos fitoquímicos y bioquímicos bioactivos, como los compuestos de *Cnidoscolus spp.*, así como la optimización de tecnologías existentes para la recuperación de mas productos de alto valor agregado

de estas especies, deben conducir a ensayos clínicos para aislar e identificar los principios responsables de las actividades biológicas de una manera segura y biotecnológica, exigencia que la ciencia debe tratar de lograr en los próximos años.

Oliveira- Júnior y col. (2018), presentaron una revisión sistemática de fármacos y aspectos químicos de *Cnidocolus*, un género importante para los grupos de investigación de plantas medicinales, de América del Sur, destacando la importancia de las especies del género *Cnidocolus* en la búsqueda para nuevas moléculas bioactivas. Los autores concluyeron, que todos los hallazgos mencionados en este trabajo de investigación, indicaron que *Cnidocolus* es un género importante de la familia Euphorbiaceae, pero aún poco explorado. En cuanto a la fitoquímica está marcada por la presencia de terpenoides, algunos con estructuras químicas únicas, que ocurren exclusivamente en este género. En la mayoría de los casos, los usos populares de estas especies están respaldados por datos farmacológicos reportados en la literatura. Sin embargo, el estudio farmacológico preclínico encontrado en esta revisión presentó baja calidad metodológica, lo que dificulta la interpretación inequívoca de los resultados. En resumen, los estudios desarrollados con las especies de *Cnidocolus* aún son escasas, lo que representa una oportunidad para encontrar nuevas moléculas bioactivas.

Kuri, Chávez y Gusmán (2017), realizaron una revisión exhaustiva de la investigación sobre el perfil fenólico y la capacidad antioxidante de una planta utilizada desde la era precolombina, nativa del sureste de México, comúnmente conocida como "chaya" (*C. aconitifolius* y *C. chayamansa*). Los componentes fitoquímicos más prevalentes en esta planta son los compuestos fenólicos, y su

capacidad antioxidante es responsable de muchos de sus beneficios para la salud, específicamente en el control de enfermedades crónicas. En la hoja de chaya, existe una tendencia general hacia la presencia de diferentes grupos fenólicos, como cumarinas, flavonoides, fenoles, taninos, antraquinonas y flobotaninos en extractos acuosos y alcohólicos. Además de los factores ambientales, existen diferencias en la forma en que se tratan las muestras antes del proceso de extracción, como el tipo de tratamiento y las condiciones de secado. También hay diferencias en los disolventes utilizados y en los métodos de extracción y concentración de los compuestos. Finalmente, se utilizaron una diversidad de técnicas, e incluso los datos se cuantificaron y expresaron de manera diferente. La chaya tiene un gran potencial para la producción como alimento y como planta medicinal, pero se necesita mucha más investigación sobre la composición de sus hojas y los efectos biológicos de sus componentes.

Echavarría y col. (2016), evaluaron la capacidad antioxidante de los extractos de dieciséis plantas medicinales: Escoba amarga (*Parthenium hysterophons*), ajenojo (*Artemisia absinthium*), chaya (*Cnidocolus chayamansa*), borraja (*Borago officinalis*), balsa (*Ochroma sp.*), linaza (*Linum usitatissimum*), hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), toronjil (*Melissa officinalis*), buganvilla (*Bougainvillea spectabilis*), alcachofa (*Cynara scolymus*), guaviduca (*Piper carpunya*), altamisa (*Ambrosia cumanensis*), diente de león (*Taxacum officinales*), buscapina (*Parietaria officinalis*) y moringa (*Moringa oleifera*). Para ello, los autores emplearon el método DPPH (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil). Aunque la mayoría de las muestras estudiadas mostraron buena capacidad antioxidante con este método (DPPH), los

ensayos de los extractos hidroalcohólicos demuestran que la alcachofa (IC₅₀ 9,89 µg/mL), moringa (IC₅₀ 11,4 µg/mL) y borraja (IC₅₀ 14,0 µg/mL), presentaron mayor capacidad antioxidante. Mediante las pruebas químicas de caracterización, se detectó la presencia de flavonoides, taninos, triterpenos, alcaloides y saponinas en la mayoría de las especies analizadas (aproximadamente 56-69%); tan sólo un 20 % de las mismas mostró la presencia de polifenoles, glucósidos cianogénicos, lactonas, cumarinas, esteroides y antraquinonas.

Otitolaiye y Asokan (2016), sometieron a un estudio fitoquímico preliminar y un análisis de GC-MS (Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas) adicional, al extracto acuoso de la planta *C. aconitifolius*, los autores aplicaron la técnica GC-MS para determinar otros constituyentes de la planta. El cribado preliminar mostró la presencia de glucósidos cardiotónicos, flavonoides, fenoles, antraquinonas y triterpenoides, mientras que mediante el GC-MS se revelaron como resultado 42 compuestos, de los cuales los principales fueron borneol (1,41 %) (**12**), óxido de cariofileno (2,73 %) (**13**), 1H-cicloprop(e)azuleno (2,02 %) (**14**), 4- (1,5-dimetil hex-4-enil) ciclohex-2-enona (4,15 %) (**15**), farnesol (2,51 %) (**16**), spiro (4,5) dec-6-en-8-ona (6,87 %) (**17**), longipinano (4,18 %) (**18**) y benceno (13,37 %) (**19**) (Figura 5). Concluyeron que la planta en estudio contiene muchas sustancias biológicas activas, compuestos que en diversas concentraciones pueden ser responsables de sus numerosas acciones biológicas.

Iwuji y col. (2016), identificaron los constituyentes fitoquímicos de los extractos acuoso e hidrometanólico de las hojas de *Cnidocolus aconitifolius* (Chaya), así como también determinaron la actividad antibacteriana. Los extractos mostraron inhibición

notable del crecimiento bacteriano en comparación con el cloranfenicol. El porcentaje de inhibición media del extracto hidrometanólico para los ocho patógenos estudiados fue 70,6 % mientras que el extracto acuoso fue 61,13 %. La actividad antimicrobiana de los extractos de *C. aconitifolius*, podría deberse a la presencia de alcaloides y flavonoides identificados por GC-MS.

Miranda, Núñez y Rodríguez (2016), realizaron la evaluación preliminar de la toxicidad de tres extractos obtenidos de las hojas de chaya (*C. chayamansa* y *C. aconitifolius*) en un modelo *in vitro*, utilizando *Artemia salina*. Para obtener los extractos los autores utilizaron dos solventes orgánicos, el etanol y metanol, a los cuales les realizaron pruebas químicas para determinar la presencia de varios metabolitos secundarios, como esteroides, triterpenos, sesquiterpenlactonas, flavonoides, alcaloides y cumarinas. Los autores lograron mediante las pruebas químicas, determinar que los metabolitos secundarios presentes relevantes fueron; alcaloides en el extracto acuoso y etanólico, así como oxhidrilos fenólicos en los dos extractos orgánicos. Por otra parte, la determinación de la toxicidad mostró una DL₅₀ > 1000 µg/mL para los tres extractos ensayados a las tres dosis mencionadas, de tal manera que siguiendo los criterios de toxicidad implementados, donde se establece que aquellos extractos cuya toxicidad esté por arriba de 1000 µg/mL no presentan toxicidad, les indicaron que los extractos probados no son tóxicos.

Jaramilo y col. (2016), determinaron las concentraciones de alcaloides, fenoles, taninos, glucósidos cianogénicos y saponinas en los extractos de las hojas de las plantas medicinales *Taraxacum officinale*, *Parthenium hysterophorus*, *Artemisia absinthium*, *Cnidioscolus aconitifolius* y *Piper carpunya* y las relacionaron con la

toxicidad aguda contra *Artemia salina*. Las concentraciones de alcaloides, fenoles totales, taninos, glucósidos cianogénicos y saponinas fueron determinadas mediante métodos espectrofotométricos. La toxicidad sobre *Artemia salina* fue de, extremadamente letal o tóxica, hasta, moderadamente tóxica. De los análisis de correlaciones realizados a los resultados, se observó que los alcaloides favorecen de manera significativa a la toxicidad aguda contra *A. salina*, mientras que a mayor contenido de polifenoles disminuye significativamente el nivel de toxicidad de las plantas. Del análisis de componentes principales, se demuestra que las saponinas están en sinergia con los polifenoles para disminuir la toxicidad, pero tienen un efecto antagónico con los alcaloides y los glucósidos cianogénicos, lo cual evidencia que estos metabolitos secundarios presentan variabilidades en los mecanismos de acción contra *A. salina*, como compuestos citotóxicos. Estos resultados demuestran que las saponinas y los polifenoles pueden ser letales para *A. salina* a bajas concentraciones, evidenciando que este bioensayo permite evaluar extractos vegetales que contengan bajas concentraciones de compuestos con altas polaridades. La correspondencia significativamente positiva entre citotoxicidad y concentración de los alcaloides, confirmada con el bioensayo de *Artemia salina*, puede ser útil para hallar fuentes promisorias de compuestos antitumorales y para evaluar los límites tolerables que no afecten otras células benignas. El contenido de metabolitos secundarios hallados en las plantas analizadas les atribuye un gran valor farmacológico.

Jaramillo y col. (2015), evaluaron, preliminarmente, la composición química de diferentes extractos obtenidos a partir de las hojas de *Cnidioscolus aconitifolius* (Mill.) I. M. Johnston que crece en Ecuador, así como la actividad antioxidante e

hipoglucemiante del extracto acuoso. Los autores realizaron el estudio fitoquímico de la droga cruda mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa y resonancia magnética nuclear protónica. La evaluación antioxidante del extracto acuoso incluyó determinaciones del potencial de reducción total, de glutatión reducido y organoperóxidos totales. Como resultados, identificaron los principales metabolitos presentes en el material vegetal, resaltando los ácidos grasos (ácido palmítico **(20)**, ácido linoleico **(21)**, ácido α -linoleico **(22)**), triterpenos (3 ceto- β -amirina **(23)**, β -amirina **(24)**, acetato de β -amirina **(25)** y acetato de lupeol **(26)**) y azúcares (glicerol **(27)**, xilitol **(28)**, arabitol **(29)**, glucitol **(30)**) (Figura 5). Los autores lograron, de manera preliminar identificar los principales metabolitos presentes en la especie que crece en Ecuador y las posibilidades de empleo del extracto acuoso como agente antioxidante, mas no como hipoglucemiante.

Iwuji y Nwafor (2015), identificaron los compuestos bioactivos menores presentes en el extracto de metanol acuoso al 80 % de la fracción de cloroformo de las hojas de *Cnidioscolus aconitifolius*, usando Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Como resultados, los espectros de RMN- H^1 se interpretaron para indicar la presencia de metabolitos secundarios como los flavonoides, antraquinonas, saponinas y alcaloides con sus compuestos bioactivos menores. Algunos de los compuestos identificados incluyen eupafolina **(31)**, hispidulina **(32)**, ácido oleonólico **(33)**, β -sitosterol **(34)**, isoquecetina **(35)**, kaempferol 3-*O*-gentiobiosido **(36)**, ramnopiranosilo-(1)-glucopiranosil-(1)-glopopiranósido **(37)**, seneciomina **(38)**, retrorsina **(39)** y senecipilina **(40)** (Figura 5). Concluyendo que, estos compuestos pueden ser medicinales, toxicológicamente potentes y responsables de los efectos

reportados de las extracciones de esta planta, sin embargo, todavía se recomienda el fraccionamiento con Cromatografía de Capa Fina de Alto Rendimiento (HPTLC) para obtener mejores resultados.

Achi y Ohaeri (2015), extrajeron e identificaron algunos compuestos bioactivos de las fracciones de metanol de la hoja de *C. aconitifolius*, que pueden proporcionar información sobre sus propiedades farmacológicas y su uso en la medicina tradicional. Como metodología, los autores sometieron la muestra a cromatografía en columna sobre gel de sílice y se eluyó con 100 mL cada uno de *n*-hexano, éter de petróleo, cloroformo y metanol respectivamente, a razón de 1 mL/min. Como resultados, los componentes orgánicos bioactivos del análisis GC-EM proporcionaron picos de seis diferentes metabolitos secundarios, además de constituyentes menores. Los compuestos principales son el ácido dodecanoico-1,2,3-propanetril éster (41), ciclotetradecano (42), ácido eicosanoico (43), ácido octadecanoico (44), propionato de 4-nitrosfenil-beta-fenilo (45), ácido benceno acético (46), ácido fenil malónico (47) y 3-oxo-4-fenilbutironitrilo (48) (Figura 5).

Antecedentes históricos

El uso de las plantas medicinales tiene orígenes remotos en diversas civilizaciones, así como regiones del mundo, ya que para la humanidad constituían su principal recurso terapéutico, al descubrir sus propiedades curativas. Dichos conocimientos han sido transmitidos de generación en generación por lo que hoy en día en muchos países se puede observar aun la práctica de implementarlas como tratamiento de diferentes afecciones, en gran medida por la falta de recursos económicos de algunos

sectores de la población, así como también por presentar menos efectos secundarios en comparación con medicamentos fabricados (Heisler y col., 2015).

Los egipcios fueron los primeros en emplear de manera sistemática las plantas medicinales, existiendo constancia de esto gracias a los diversos papiros encontrados, en los cuales plasmaron remedios contra enfermedades a manera de recetario, así como otras prácticas médicas (El Shahhat Saad, 2015).

En Grecia los inicios de la medicina natural se relacionan con figuras como Pitágoras, Demócrito e Hipócrates, el cual aportó mucho a esta a través de su observación clínica de la evolución de la enfermedad, con discernimientos muy completos. Igualmente, Galeno hizo extensos estudios en anatomía y resumió los conocimientos terapéuticos de la época, al sintetizar las obras de Dioscórides, Filón de Alejandría, Pablo de Tarso, Escribonio Largo, Sestionigele y Andrómaco, en dichas obras se encontraban recomendaciones a cerca de múltiples plantas medicinales (Pascual, Pérez, Morales, Castellanos y González, 2014).

Los árabes y persas en el siglo IX, inventaron el alcohol y lo emplearon para destilar plantas aromáticas y medicinales, así mismo en el siglo XVII, en la cultura China aumentó el uso de las plantas medicinales llegando a desarrollar cientos de formulaciones a partir de estas. Otra cultura que utilizó las especies vegetales para su beneficio, fue la India, cuyo referente es el Ayurveda, definido como un sistema médico holístico basado en la utilización de plantas (Prieto, Garrido, González y Molina, 2004).

Tanto en el antiguo sistema ayurveda como en la medicina china quedó documentado el uso de muchas especies de la familia Euphorbiaceae para tratar

diversas afecciones como mordeduras de serpientes, esguinces, convulsiones, vientre hinchado, asma, tumores, reumatismo, como purgante y para curar el hígado (Mwine y Van Damme, 2011).

Por otra parte, los conquistadores encontraron una gran riqueza botánica y cultural al descubrir las tres grandes civilizaciones Azteca, Maya e Inca, quedando plasmado en numerosos manuscritos y libros que describen una variedad de especies vegetales con propiedades curativas, un ejemplo de esto es cuando en el año 1565, el médico Sevillano Nicolás Monardes, publicó “Historia de las cosas que se traen de nuestras Indias Occidentales”, dando a conocer los productos de América que sirven a la medicina como la zarzaparrilla, la coca, palo santo, caña fistula, entre muchas otros (Albornoz, 2001).

Informes revelan que en el sistema de hierbas desarrollado en Yucatán utilizaban especies como *Euphorbia ptercineura* para el asma y tos, *Croton peraeuruginosus* para espinillas y *Phyllanthus micrandrus* Müll. Arg, para tratar las heridas, inflamaciones e infecciones, todas pertenecientes a la familia Euphorbiaceae (Mwine y Van Damme, 2011).

En Europa, en la época del renacimiento, una figura resaltante fue Paracelso que contribuyó con su trabajo al crecimiento del estudio y tratamiento con plantas medicinales; dando lugar a que en el siglo XIX los científicos comenzaran a aislar los principios activos presentes en las especies curativas, descubriendo inicialmente ciertos alcaloides y flavonoides, siendo elegidos por las empresas farmacéuticas para su comercialización. De aquí que, muchas especies han sido estudiadas para descubrir

nuevos componentes biológicamente activos de interés farmacológico, como los fenoles, terpenos, entre muchos otros (Prieto y col., 2004).

Bases Teóricas

Familia Euphorbiaceae.

La familia Euphorbiaceae está constituida por unos 300 géneros y aproximadamente 8000 especies, considerada por esto como la más rica en géneros y especies dentro del orden Malpighiales (Wurdack y Davis, 2009). Su nombre proviene del género *Euphorbia* con el cual comparte su etimología. En general, es una familia muy diversa y crece en casi todos los ambientes; las plantas pertenecientes a esta poseen muchas cualidades que les atribuyen cierto valor alrededor del mundo, no solo como recurso medicinal, sino también alimentario y hasta económico. Siendo las especies *Manihot esculenta*, *Hevea brasiliensis*, *Croton flavens*, *Croton hurucurana*, *Euphorbia mili*, *Euphorbia pulcherrima*, *Euphorbia tirucalli*, *Jatropha curcas* y *Ricinus communis*, unas de las más reconocidas por la población (Maya y Agudelo, 2009).

Características botánicas de la familia Euphorbiaceae.

Árboles, arbustos, hierbas o trepadoras, dioicas o monoicas con tallos ocasionalmente suculentos y/o con látex. Las hojas alternas, rara vez verticiladas y simples con venación generalmente palmada, pocas veces reticulada a excepción de *Cnidoscolus*. Estípulas presentes y frecuentemente prominentes, algunas veces caducas; indumento simple, estrellado, lepidoto o ausente, principalmente en las familias Acalyphoideae, Crotonoideae y en menor medida en Euphorbioideae (Smith, Mori, Henderson, Stevenson y Heald, 2004).

Inflorescencias terminales o axilares, cimosas con flores solitarias o en glomérulos, frecuentemente agrupados en tirsos capitados, espiciformes o en pseudantios; brácteas frecuentemente glandulares. Flores unisexuales, actinomorfas o zigomorfas; segmentos del perianto libres, connados, valvados o imbricados, algunas veces reducidos o ausentes; sépalos y pétalos, algunas veces distintamente coloreados; disco presente o ausente, intraestaminal o extraestaminal, entero a disecto; estambres, hipogíneos, filamentos libres o connados; anteras frecuentemente 2-loculares y dehiscentes longitudinalmente, intorsas o extorsas; polen bastante variados en tamaño, forma y ornamentación; gineceo sincárpico, ovario locular; placentación axilar; un óvulo por loculo, anátropos o hemítropos, insertos basalmente, crasinucelado con dos integumentos, nucelas frecuentemente acorazadas, saco embrionario frecuentemente 8-nucleado; estilos libres o connatos en la base, cada uno generalmente bífido (Maya y Agudelo, 2009).

Los frutos son generalmente capsulares, esquizocárpicos con mericarpos elásticos dehiscentes en sentido adaxial, algunas veces son tipo bayas como se ve en ciertas especies de *Phyllanthae*, o drupas presentes en *Antidesmeae*, *Picrodendron*, *Aleurites* e *Hippomane*. En cuanto a las semillas se observa una por lóculo, rara vez una por fruto; cubierta seminal delgada a rígida, algunas veces con sarcotesta; endospermo presente o ausente que puede ser aceitoso y a menudo con proteínas venenosas con embrión recto, curvado o folioso (Smith y col., 2004).

Taxonomía de la familia Euphorbiaceae.

En la Tabla 1, se muestra la taxonomía de la familia Euphorbiaceae.

Tabla 1

Taxonomía de la familia Euphorbiaceae

Reino:	Plantae
Filo:	Tracheophyta
Clase:	Equisetopsida
Subclase:	Magnoliidae (Angiospermas)
Superorden:	Rosanae
Orden:	Malpighiales
Familia:	Euphorbiaceae (Chase y Reveal, 2009)
Subfamilias:	Euphorbioideae, Crotonoideae, Acalyphoideae (APG II, 2003). Peroideae y Cheilosoideae (Wurdack, Hoffmann y Chase, 2005).

Distribución de la familia Euphorbiaceae.

Esta es una familia tropical y subtropical en ambos hemisferios, la mayoría de los taxones crece en zonas bajas, sin embargo, algunas especies pueden alcanzar los 4000 m de altitud, la mayoría de las especies se encuentran en América y África tropical (Maya y Agudelo, 2009).

Géneros como *Cnidoscolus*, *Croton* y *Jatropha* son comunes en los desiertos del hemisferio oeste y en los bosques de matorrales xerófitos de México y Argentina, ya que en los trópicos se presenta la mayor diversidad, principalmente en los bosques lluviosos e incluso más en los bosques estacionales y desiertos (Smith y col., 2004).

Usos de la familia Euphorbiaceae.

A nivel mundial son empleados varios géneros y especies pertenecientes a esta familia, dada su amplia distribución y diversidad de compuestos, no solo con fines curativos, si no también alimenticios y económicos, entre estas la especie *Manihot esculenta*, conocida en algunos países como yuca, mandioca o casabe, parte

importante de la alimentación de los mismos, la especie *Hevea brasiliensis* de la cual se fabrica caucho a partir de su látex, la especie *Croton cajucara* que posee diterpenos que tienen propiedades insecticidas, o como la especie *Ricinus communis* de la cual se obtiene el aceite de recino conocido como purgante y utilizado en la fabricación de plásticos, pinturas, lubricantes y cosméticos (Bittner y col., 2001).

Algunas especies como *Euphorbia milli* (corona de cristo), *Euphorbia tirucalli* (arbusto de los dedos), *Euphorbia obesa* (erizo de mar) y *Euphorbia pulcherrima* (flor de navidad) son utilizadas como plantas ornamentales por su atractivo, tanto en hogares como en espacios públicos (Mwine y Van Damme, 2011).

Actividad farmacológica de la familia Euphorbiaceae.

La familia Euphorbiaceae está constituida por plantas reconocidas desde la antigüedad como medicinales, como la especie *Euphorbia fischeriana* que es usada como una droga anticancerígena. Otras especies como *Croton flavens* se usan en América Latina por sus propiedades para tratar problemas de la próstata, heridas, congestión nasal, fiebre, reumatismo, dolores de estómago, enfermedades de la piel, sífilis y neumonía; al igual que *Croton nivens*, que es utilizada como tónico y antipirético, así como en el tratamiento de hemorroides, diarrea crónica, disentería, dolores reumáticos, colon irritado y molestias menstruales (Bittner y col., 2001).

En la medicina alternativa son conocidas diversas especies de *Euphorbia* por sus características curativas, siendo utilizados brebajes, tés y hasta el látex de las mismas contra enfermedades como gonorrea, artritis, cáncer, neuralgias, asma, tos, dolor de oído, reumatismo, diarrea, disentería, cólera, dolor de muela, entre otras (Mwine y Van Damme, 2011).

Investigaciones revelan que algunas Euphorbias son tan potentes que sus extractos han sido aislados y patentados como medicamentos modernos, como el caso de Euphorbium que es obtenido a partir del látex de *Euphorbia resinifera*, utilizado contra infecciones virales, rinitis de diversos orígenes, sinusitis, secreción nasal crónica, así como síntomas de gripe; o el extracto de *Euphorbia pilulifera* que puede aplicarse contra el asma, coriza y otras infecciones respiratorias; así como el extracto de *Euphorbia hirta* que se utiliza en el tratamiento de enfermedades diarreicas (Mwine y Van Damme, 2011).

El género *Acalypha* es usado tradicionalmente para tratar fiebre, disentería, diabetes, hipertensión, infecciones de la piel, neumonía, entre otras; conocimiento que ha generado investigaciones sobre especies como *Acalypha integrifolia* Willd., revelando actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus meticulo resistente*; así como una moderada actividad contra hongos como *Candida albicans* (Seebaluck-Sandoram y col., 2017).

En la Tabla 2, se muestran varias especies pertenecientes a la familia Euphorbiaceae y algunos de los usos que le son dados por la población popularmente.

Tabla 2
Especies de la familia Euphorbiaceae y sus usos en medicina popular

Especie	Usos en medicina popular
<i>Colliguaja odorifera</i>	Analgésico
<i>Colliguaja salicifolia</i>	Analgésico
<i>Euphorbia lactiflua</i>	Purgante drástico
<i>Euphorbia peplus</i>	Purgante drástico
<i>Euphorbia serpens</i>	Purgante drástico
<i>Croton draconoides</i>	Cicatrizante
<i>Croton flavens</i>	Expectorante

Composición química de la familia Euphorbiaceae.

La familia Euphorbiaceae, revela una gran diversidad, que se ve reflejada en la variedad de compuestos químicos que produce, como consecuencia de mutaciones debidas a la exposición a diferentes hábitats y estímulos ambientales, provocando que algunos miembros de esta familia presente constituyentes venenosos, como el látex que contiene caucho, aceites, taninos, resinas y sustancias gomosas que en ciertas especies es venenoso e irritante, o como la especie *Ricinus communis* que produce una de las toxinas más potentes denominada ricina (Mwine y Van Damme, 2011).

Zeghad y col. (2016), investigaron la composición química de *Euphorbia biumbellata*, *Euphorbia terracina* y *Euphorbia dendroides*, especies cuyas partes son venenosas, revelando la presencia de flavonoides, taninos, cumarinas, cardenolidos, esteroides, terpenos, saponinas, lípidos y antocianinas, mas no alcaloides.

En diversas especies de *Acalypha* se ha reportado una composición química integrada por diterpenos, triterpenos de cicloartano, tetraterpenos y sesquiterpenos, esteroides, fitoesteroides, compuestos polares como los taninos hidrolizables monoméricos, polifenoles y antocianinas aciladas, la quercetina (49), glucósidos de

kaempferol, glucósidos cianogénicos y ácido gálico (**1**), principalmente en los extractos de sus partes aéreas (Rascón y col., 2015).

En la Figura 1, se puede observar la estructura de la quercetina (**49**) y del ácido gálico (**1**) reportados en especies de *Acalypha* de la familia Euphorbiaceae.

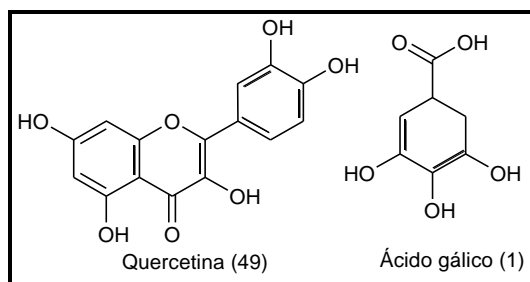


Figura 1. Estructura de la quercetina y ácido gálico

Especies como *Croton tiglium* presenta ésteres forbólicos altamente irritantes y además generadores de tumores, así mismo de *Croton chilensis* se han aislado especialmente alcaloides; otras especies estudiadas presentaron diterpenos nuevos con esqueletos de tipo kaurano, latirano y abietano, como los crotofolanos, entre estos el crotofolin E (**50**) (Figura 2) (Bittner y col., 2001).

Mogollón, Rondón, Morales y Contreras (2016), llevaron a cabo el estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Euphorbia laurifolia* determinando por primera vez la presencia de lanosterol (**51**) y glucósido de β -sitosterol (**52**) (Figura 2).

En la Figura 2, se presenta la estructura de algunos compuestos aislados de especies de la Familia Euphorbiceae.

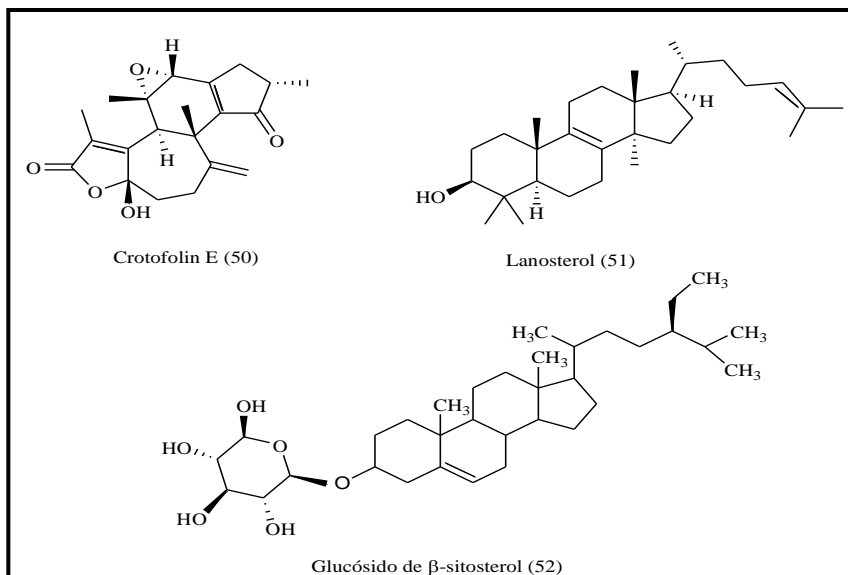


Figura 2. Estructura de algunos compuestos aislados en especies de la familia Euphorbiaceae

Género *Cnidoscolus*.

En diversos países, ciertas especies del género *Cnidoscolus*, son reconocidas popularmente con nombres como chaya, chaya brava, árbol de espinaca, mala mujer, pica-pica blanca, chichicaste, ortiga, ortiga de toro, chicasquil, chichay tza, faveleira, mandioca brava, entre otros, algunas implementadas como medicina para tratar diversas afecciones, otras usadas como alimento por su valor nutricional, encontrándose en América alrededor de 60 especies (Orozco, 2013).

Algunas de las especies que integran el género son: *Cnidoscolus texanus*, *Cnidoscolus multilobus*, *Cnidoscolus vitifolius*, *Cnidoscolus sauzae*, *Cnidoscolus reginus*, *Cnidoscolus obtusifolius*, *Cnidoscolus quercifolius*, *Cnidoscolus aconitifolius*, *Cnidoscolus urens*, *Cnidoscolus bellator*, *Cnidoscolus stimulosus*, *Cnidoscolus fragans*, entre otras, cuyo crecimiento es típico en las regiones secas del trópico (Terán, 2011).

Características botánicas del género *Cnidoscolus*.

Las especies del género *Cnidoscolus*, se caracterizan por tener tricomas duros y urticantes distribuidos por sus partes vegetativas y florales, que causan reacciones alérgicas cuando entran en contacto con la piel (Oliveira-Júnior y col., 2018).

Algunos miembros se presentan como árboles generalmente xerófilos que pueden alcanzar ocho metros de altura, con hojas largas, gruesas en forma de lanzas, otras plantas pertenecientes al género se caracterizan por tener palmas lobuladas, con savia lechosa y flores pequeñas en la parte superior dicotómicamente ramificada, así como semillas de diferentes formas y tamaños, de las cuales algunas presentan aceites con propiedades beneficiosas (Moura y col., 2019).

Otro aspecto relacionado con la supervivencia en tiempo de sequía, es la presencia de raíces tuberosas y xilópodos que tienen especies como *Cnidoscolus quercifolius*, y que utilizan como reserva de alimento, ya que en general el género puede desarrollarse en cualquier tipo de suelo (Moura y col., 2019).

Las plantas pertenecientes a este género son resistentes a la sequía, sin embargo, se adaptan a las regiones tropicales húmedas, crecen en suelos que van desde arcillas cafés hasta lateritas, suelos derivados de roca madre ígnea y piedras limosas (Orozco, 2013).

Taxonomía del género *Cnidoscolus*.

En la Tabla 3, se muestra la taxonomía del género *Cnidoscolus*.

Tabla 3

Taxonomía del género Cnidoscolus

Reino:	Plantae
Filo:	Tracheophyta
Clase:	Equisetopsida
Subclase:	Magnoliidae (Angiospermas)
Superorden:	Rosanae
Orden:	Malpighiales
Familia:	Euphorbiaceae (Chase y Reveal, 2009)
Subfamilia:	Crotonoideae
Tribu:	Manihoteae
Género:	<i>Cnidoscolus</i> (Terán, 2011).

Distribución del género *Cnidoscolus*.

Este género puede crecer desde el nivel del mar hasta los 1500 msnm, así como en diversos tipos de ambientes que van desde los secos, espinosos, lluviosos hasta los bosques verdes, naturalmente se distribuye desde México, Guatemala hasta Honduras, abarcando países como Colombia, Venezuela, Perú y Ecuador (Orozco, 2013).

La mayor diversidad de especies de *Cnidoscolus* se encuentran en regiones de bosques caducifolios y xerofítico de países como Brasil y México, con una amplia distribución en áreas tropicales y subtropicales, siendo encontradas especies en zonas de Estados Unidos y África (Oliveira-Júnior y col., 2018).

Usos del género *Cnidoscolus*.

Por lo general este género es utilizado como cerco vivo, matorrales maderables, delimitación de linderos, forraje para animales, cultivos mixtos, estabilización de cauces fluviales, recuperación de áreas en proceso de desertificación, igualmente

algunas son usadas como plantas ornamentales como por ejemplo la especie *Cnidoscolus texanus* y *Cnidoscolus stimulosus* (Moura y col., 2019).

Así mismo, especies como *Cnidoscolus chayamansa* son consideradas un alimento alternativo por presentar un alto contenido de calcio, ácido ascórbico, hierro, retinol y proteína cruda, siendo utilizadas en ensaladas, guisos, sopas, infusiones y hasta refrescos (Orozco, 2013).

Actividad farmacológica del género *Cnidoscolus*.

El género *Cnidoscolus* está integrado por especies reconocidas popularmente en varios países, principalmente del continente Americano, por sus efectos curativos entre estas *Cnidoscolus infestus*, *Cnidoscolus quercifolius*, *Cnidoscolus urens*, *Cnidoscolus obtusifolius*, y que son implementadas por la población para tratar una gran variedad de afecciones, como disentería, hemorragias, dolor de muelas, hematomas, verrugas, infecciones urinarias, fracturas, desordenes hepáticos y renales, apendicitis, diabetes, reumatismo y cáncer (Terán, 2011).

Es preciso mencionar que han sido varios los estudios realizados en diferentes especies, para determinar los componentes químicos que se encuentran en cada una de sus partes, obteniendo como resultado, la posibilidad de explicar las propiedades farmacológicas que se le atribuyen desde el punto de vista de la etnobotánica, como la especie *Cnidoscolus urens* que ha mostrado actividad proteolítica, fibrinogelítica, procoagulante y fibrinolítica, lo que se relaciona con su uso como antihemorrágico, trombolítico y cicatrizante, así como también la especie *Cnidoscolus multilobus* que revelo actividad antibacteriana al inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis* (Moura y col., 2019).

La especie *Cnidoscolus quercifolius* Pohl, planta endémica de Brasil, es utilizada en caso de infecciones, problemas estomacales, dolor e inflamación; por lo que se investigaron los extractos de varias de sus partes, a través de modelos experimentales, con respecto a la actividad antinociceptiva y antiinflamatoria, respaldando el uso popular que se le da (Oliveira-Júnior y col., 2018).

De igual manera, se ha evaluado la actividad antibacteriana de la misma especie demostrando efectividad contra cepas de *Staphylococcus spp.* y *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, además se comprobó la actividad citotóxica contra diferentes líneas celulares como la línea celular HT-29 de adenocarcinoma de colon humano, o las células HL-60 de la leucemia promielocítica humana, considerada por lo tanto como una posible fuente de agentes anticancerígenos (Oliveira-Júnior y col., 2018).

Composición química del género *Cnidoscolus*.

Estudios revelan que el género puede presentar diversos compuestos químicos como fenoles, alcaloides, flavonoides, saponinas, terpenos, glucósidos cardiotónicos, esteroides, ácidos grasos, antraquinonas, al igual que toxinas como la cursina, que provoca aglutinación de los glóbulos rojos, el ácido cianhídrico que genera cianuros, la atropina (**53**) que es altamente tóxico y puede desencadenar acciones depresoras del sistema nervioso central, entre otras (Orozco, 2013).

Algunas especies como *Cnidoscolus texanus* tienen en su composición química gran cantidad de flavonoides, siendo aislados principalmente derivados glicosilados de flavonoides como la apigenina (**11**) (Figura 3), así como también cumarinas y derivados del ácido cinámico, en cuanto a los esteroides, se ha reportado la presencia

de β -sitosterol (**34**) (Figura 5) en las especies *Cnidoscolus multilobus*, *Cnidoscolus phyllacanthus* y *Cnidoscolus vitifolius*, las cuales poseen triterpenos como el lupeol (**54**) (Figura 3) (Oliveira-Júnior y col., 2018).

En la Figura 3, se observa la estructura de la apigenina (**11**) y el lupeol (**54**), aislados en especies del género *Cnidoscolus*.

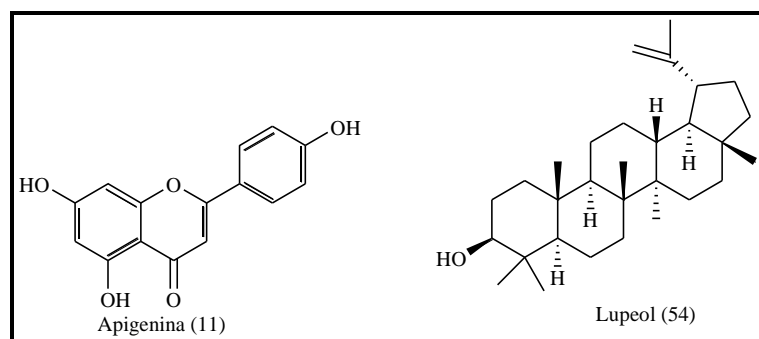


Figura 3. Estructura de la apigenina y el lupeol aislados en especies del género *Cnidoscolus*

Las especies *Cnidoscolus multilobus* y *Cnidoscolus urens* provocan mayor efecto tóxico en la piel, debido a la glándula con pelos urticantes que presenta oxalatos, provocando hinchazón y ampollas en las partes afectadas, siendo *Cnidoscolus urens* una de las plantas urticantes más dolorosas, así mismo el látex de estas especies provoca quemaduras en la piel y mucosas, si es ingerido puede generar vómitos, trastornos estomacales y nerviosos (Orozco, 2013).

El estudio fitoquímico del extracto acuoso de las hojas de *Cnidoscolus quercifolius* reveló la presencia de flavonoides, catequinas y triterpenoides; así mismo el estudio químico de su corteza y hojas permitió determinar que contiene cumarinas, flavonoides, monoterpenos, diterpenos, triterpenos, naftoquinonas, derivados de

antraceno, lignanos y esteroides. La especie también contiene flavona, flavonoles, flavanonas, xantonas, fenoles, alcaloides y taninos (Moura y col., 2019).

Especie *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst.

La especie *C. aconitifolius*, perteneciente a la familia Euphorbiaceae, es nativa de Mesoamérica, es una aportación de los mayas al mundo, ya que para esta cultura era una importante fuente de alimento y medicina, y fue dada a conocer en Europa por los conquistadores. Las investigaciones realizadas indican que existen cuatro variedades domesticas de esta especie determinadas como estrella, mansa, picuda y plegada (Orozco, 2013).

Este arbusto cultivado por sus hojas nutritivas, crece tanto en suelos secos como en aquellos constantemente inundados, se caracteriza por sus pelos urticantes, glándulas petiolares y por tener una sola envoltura floral blanca, además ha recibido distintos nombres, referentes a su taxonomía, como *Cnidoscolus chaya* Lundell, *Jatropha aconitifolia* Mill, *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh, entre otros, sin embargo, todos estos fueron agrupados como *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst por Breckon en 1975 (Ross y Molina, 2002).

Taxonomía de *Cnidoscolus aconitifolius*.

En la Tabla 4, se muestra la taxonomía de *Cnidoscolus aconitifolius*.

Tabla 4

Taxonomía de Cnidoscolus aconitifolius (Mill.) I.M. Johnst

Reino:	Plantae
Filo:	Tracheophyta
Clase:	Equisetopsida C. Agardh
Subclase:	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden:	Rosanae Takht.
Orden:	Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia:	Euphorbiaceae Juss.
Subfamilia:	Crotonoideae
Tribu:	Manihoteae
Género:	<i>Cnidoscolus</i> Pohl (Terán, 2011).
Especie:	<i>Cnidoscolus aconitifolius</i> (Mill.) I.M. Johnst (Ross y Molina, 2002).

Características botánicas de *Cnidoscolus aconitifolius*.

Arbusto caducifolio arborescente perenne que crece hasta 6 metros de altura con hojas lobuladas palmeadas grandes de unos 32 cm de largo y 30 cm de ancho, con pecíolos hasta 28 cm de largo, que están dispuestas alternativamente, y pueden caer en tiempos de mucha sequía (Onasanwo, Oyagbemi y Saba, 2011).

Presenta savia lechosa y pequeñas flores blancas que se encuentran en racimos de ramificación dicótoma, cuya floración es más común en los meses de verano, aunque se pueden encontrar flores y frutos todo el año. Esta especie es monoica, con flores masculinas y femeninas separadas, cada una con partes no funcionales del otro sexo (Ross y Molina, 2002).

En la Figura 4, se puede observar el arbusto de *Cnidoscolus aconitifolius*.



Figura 4. Arbusto de *Cnidoscolus aconitifolius*

Existen cuatro variedades de esta especie, las hojas maduras de la variedad mansa tienen 5 lóbulos, de los cuales el central se sobrelapa a los dos siguientes lóbulos laterales, la lámina es más succulenta y sale del pecíolo a un ángulo, a causa de la curvatura de las venas, normalmente tiene dos glándulas separadas y los pelos urticantes muy reducidos ubicados solo sobre el pecíolo y el margen abaxial de la lámina. Así mismo, el tallo suele ser más grueso, rara vez produce frutos, y si llegan a presentarse no maduran ni producen semillas. Además, carece casi por completo de producción de polen; es muy común encontrar anteras totalmente vacías, y el poco polen producido es claramente malformado (Ross y Molina, 2002).

Según Ross y Molina (2002), en la variedad redonda las hojas maduras tienen tres lóbulos con márgenes simples o con dentación fina, los pelos urticantes son reducidos, y frecuentemente recurvados hacia el pecíolo, produce mucho polen, pero pruebas de germinación han demostrado que éste es totalmente inviable, además existen reportes de frutos y semillas. La variedad picuda se caracteriza por la falta de pelos urticantes, ya que normalmente inflados con líquido, en esta variedad están

desinflados y flácidos. Las plantas de picuda producen grandes cantidades de polen y semillas. La variedad estrella tiene pelos similares a los de picuda, pero no produce flores bajo condiciones del invernadero, y no hay información sobre la producción de polen y semillas.

Esta planta se adapta bien a cualquier tipo de suelo y condiciones climáticas, no se han reportado plagas o enfermedades importantes en la misma, su propagación es simple, principalmente por esquejes o vegetativamente y requiere de poco mantenimiento (Orozco, 2013).

Distribución geográfica de *Cnidoscolus aconitifolius*.

Este arbusto frondoso de crecimiento rápido tiene una distribución tropical y subtropical, ampliamente repartido alrededor del mundo, ya que, además de encontrarse en países como México, Guatemala y Honduras, donde su cultivo es más común, también se encuentra en países como Colombia, Venezuela, Puerto Rico, Cuba, y en algunas partes de Estados Unidos como en Texas y Florida (Ross y Molina, 2002).

De igual manera, *Cnidoscolus aconitifolius* se puede encontrar en toda Nigeria, África Oriental y Kenia, ya que es una planta que resiste condiciones de sequía, siendo reconocida popularmente por la población con nombres como Iyana-Ipaja y sembrada por su valor nutricional y medicinal (Babalola y Alabi, 2015).

Usos de *Cnidoscolus aconitifolius*.

C. aconitifolius es considerada como una fuente nutricional por su alto contenido de proteínas, vitaminas, minerales, enzimas y oligoelementos, presentando una composición nutricional mejor que la espinaca y el bledo. Desde tiempos

prehispánicos culturas como la maya utilizaban esta especie como alimento al combinarla con maíz y semillas de calabaza en forma de tamal, para conseguir un balance en su nutrición, de igual manera las poblaciones modernas utilizan las hojas grandes como envolturas luego de hervirlas con sal, o combinadas con otras verduras en forma de guiso y ensaladas (Orozco, 2013).

En el sudoeste de Nigeria esta planta es consumida como vegetal y condimento de sopas, ya que la población de bajos recursos la reconoce como una gran fuente de fibra, proteínas, vitamina A, ácido ascórbico, niacina, riboflavina, tiamina, minerales como calcio, hierro y fosforo (Onasanwo y col., 2011).

Estudios indican que *C. aconitifolius* tiene niveles de fibra más altos que frutas como el higo y la anona, además por su contenido de proteína cruda puede implementarse como alimento para bovinos, pollos, cerdos, patos, también se ha usado como alimento para cabras para aumentar su producción de leche, siendo utilizada en la industria alimentaria para la elaboración de quesos y como suavizante de carnes (Orozco, 2013).

Actividad farmacológica de *Cnidoscolus aconitifolius*.

Los brotes y hojas de esta especie han sido implementados como laxantes, diuréticos, estimulantes circulatorios, así mismo la infusión de esta planta es utilizada para calmar la diarrea, popularmente es recomendada para mejorar la memoria, tratar diversas afecciones como problemas digestivos, obesidad, insomnio, aterosclerosis, hemorroides, diabetes, colesterol alto y problemas oculares (Otitolaiye y Asokan, 2016).

Diversos extractos de esta planta presentan efectos antibacteriano, antidiabético, antioxidante, antiinflamatorio, siendo utilizada para tratar la anemia, el alcoholismo, insomnio, gota y picaduras de escorpiones (Otitolaiye y Asokan, 2016).

Así mismo, otros estudios demuestran que esta planta posee propiedades antibacterianas, al inhibir notablemente el crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibro cholera* y *Bacillus subtilis* (Iwuji y col., 2016).

Onasanwo y col. (2011), realizaron pruebas en ratas y ratones para determinar las propiedades antiinflamatoria y analgésica del extracto etanólico de *Cnidoscolus aconitifolius*, concluyendo que dicho extracto efectivamente presenta actividad antiinflamatoria y analgésica dependiendo de la dosis.

Azeez, Oyagbemi, Oyeyemi y Odetola (2010), determinaron el efecto del extracto etanólico de *Cnidoscolus aconitifolius* sobre parámetros hematológicos, la fragilidad osmótica de los eritrocitos y la morfometría de los espermatozoides en la diabetes mellitus inducida por aloxano en ratas, obteniendo resultados satisfactorios ya que el extracto produjo un efecto restaurador de estos parámetros.

En algunas ciudades del oriente de Venezuela, el licuado de las hojas frescas de esta planta se utiliza para la cura del cáncer, así como también el látex de la misma para el tratamiento de callosidades y cataratas (Ramírez y Villalobos, 2008).

Composición química de *Cnidoscolus aconitifolius*.

Otitolaiye y Asokan (2016) realizaron el estudio fitoquímico del extracto acuoso de *Cnidoscolus aconitifolius*, el cual reveló compuestos como glucósidos cardíacos, flavonoides, fenoles, antraquinonas y triterpenoides, así como también borneol (12),

óxido de cariofileno (**13**), 4-(1,5-Dimetil hex-4-enil) ciclohex-2-enona (**15**), farnesol (**16**), spiro (4,5) dec-6-en-8-ona (**17**), longipinano (**18**) y benceno (**19**) (Figura 5).

Además, estudios realizados en diversos tipos de extractos de la planta, entre estos el acuoso, hexanoico, etanólico, han revelado diferentes concentraciones de compuestos como fenoles, taninos, flavonoides, antroquinonas, flobotaninos, quercetina (**49**) (Figura 1), hispidulina (**32**), galato de epigallocatequina (**55**) (Figura 5), cumarinas, entre otros (Kuri y col., 2017).

Otra investigación sobre la composición química de los extractos de las hojas de *Cnidocolus aconitifolius* mostró metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, carotenoides, oxalatos, saponinas, taninos, así como grasas, proteínas, carbohidratos y fibra (Babalola y Alabi, 2015).

Iwuji y Nwafor (2015), estudiaron la composición química de *Cnidocolus aconitifolius* identificando flavonoides, antraquinonas, saponinas y alcaloides, resaltando compuestos como eupafolina (**31**), ácido oleanólico (**33**), kaempferol 3-*O*-gentiobiosido (**36**), ramnopiranosil-(1)-glucopiranosil-(1)-glucopiranosido (**37**), diosgenil glucopiranosido (**56**), senecionina (**38**), terpineol (**57**) (Figura 5).

Estudios revelan que el contenido de ácido ascórbico de las hojas de *Cnidocolus aconitifolius* es hasta siete veces mayor que el encontrado en las hojas de la naranja y el limón, al igual que el contenido de proteína que supera al del frijol. Las hojas crudas son una gran fuente de antioxidantes naturales, siendo aislados los flavonoides kaempferol-3-*O*-glucosido (**58**) y el quercetina-3-*O*-glucósidoo isoquercetina (**35**) (Figura 5) (Orozco, 2013).

Orozco (2013) determinó la presencia de alcaloides, almidones, terpenoides, esteroides, fenoles, mucilago, grasas y aceites en *Cnidoscolus aconitifolius* mediante el tamizaje fitoquímico, de igual manera comprobó la ausencia de taninos, lignina y saponinas.

Según investigaciones de la composición química y molecular de esta especie, la planta presenta un alto contenido de ceniza, proteína y minerales como Fe, Mn, Na, Ca, K, Zn, Cu, y Mg, sin embargo, las hojas crudas de la misma también son tóxicas, pues contienen un glucósido cianogénico llamado linamarina (**59**) (Figura 5), que puede liberar el tóxico cianuro, el cual es eliminado con el vapor y no se retiene en el agua de cocción, siendo parecida a la mandioca, que también contiene los glucósidos cianhídricos tóxicos (Orozco, 2013).

Ramírez y Villalobos (2008), lograron aislar dos triterpenos del extracto acetónico de las hojas de *Cnidoscolus aconitifolius*, estos fueron la taraxerona (**60**) y el β -sitosterol (**34**) (Figura 5).

En la Figura 5, se observa la estructura de algunos de los compuestos aislados de *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst.

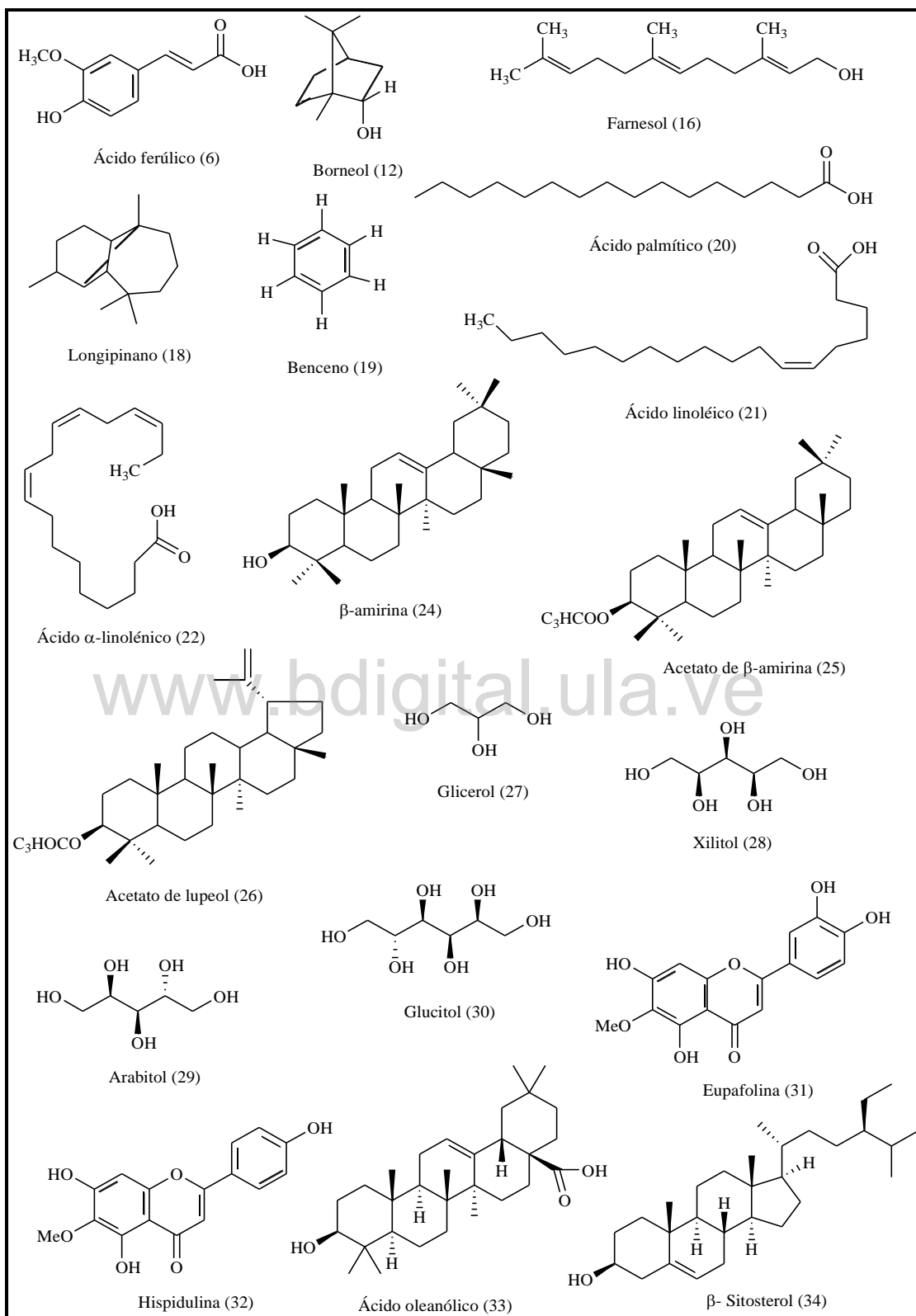
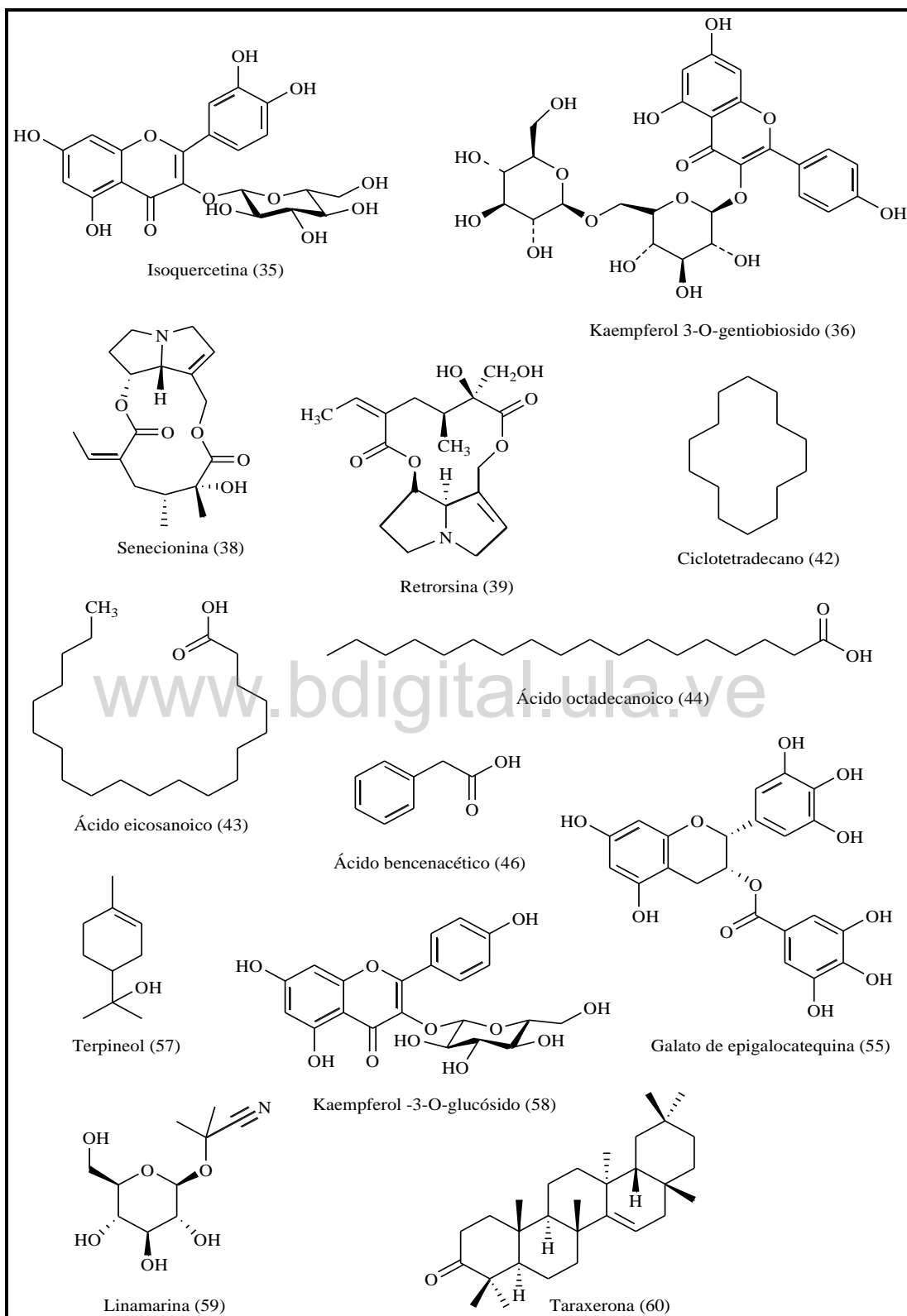


Figura 5. Estructuras químicas de algunos compuestos aislados en *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst



Continuación *Figura 5*. Estructuras químicas de algunos compuestos aislados en *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst

Productos Naturales.

Se trata de compuestos químicos producidos por el metabolismo secundario de los organismos vivos, encontrándose constituidos por moléculas con diferentes estructuras, propiedades y orígenes biosintéticos, que tienen utilidad tanto para el hombre como para la adaptación de las plantas al medio ambiente (Ringuelet y Viña, 2013).

Es por esto que, los productos naturales han sido implementados por el hombre a través del tiempo en diversos ámbitos, teniendo especial relevancia en el campo farmacéutico, debido a su diversidad estructural, sus propiedades bioactivas y farmacocinéticas, siendo esto el origen de muchos fármacos, además de representar una fuente inagotable de principios activos que supone un avance en el descubrimiento de otros nuevos tratamientos (Jiménez, 2013).

Metabolitos secundarios.

Los metabolitos o compuestos químicos celulares se clasifican en primarios, los cuales son necesarios para el desarrollo y reproducción de todos los seres vivos; y secundarios que por lo general, no se relacionan directamente con las funciones vitales, siendo sintetizados por las plantas a partir de compuestos del metabolismo primario, y utilizados para interactuar con el medio, teniendo además una distribución restringida en el reino vegetal, es decir se encuentran a menudo en una especie o en un grupo de especies taxonómicamente relacionadas (Ringuelet y Viña, 2013).

Estos compuestos son producidos por las plantas para cumplir funciones protectoras y reproductivas, así como también para adaptarse a condiciones adversas de suelo o clima, siendo utilizados por el hombre en diversos campos como la

industria farmacéutica, alimenticia, terapéutica de cultivos, cosmética, entre otras, dadas sus múltiples propiedades (Sierra, Barrios, Gómez, Mejía y Suarez, 2018).

Según Ringuet y Viña (2013) los metabolitos secundarios se pueden agrupar en tres grupos, siendo estos los compuestos nitrogenados y azufrados, que incluyen los alcaloides, glucósidos cianogénicos, glucosinolatos, betalaínas, entre otros; los compuestos fenólicos, entre los que están, los fenilpropanoides, cumarinas, flavonoides, quinonas fenólicas, ligninas, taninos, entre otros; y por último los terpenoides, que comprenden hormonas, carotenoides, clorofila, esteroides y aceites esenciales.

Triterpenos.

Estos metabolitos secundarios que tienen como precursor biosintético el isopentenilpirofosfato, poseen una estructura cíclica compleja compuesta por seis unidades de isopreno, con un total de 30 átomos de carbono, encontrándose entre estos los esteroides que son esteroides que contiene un grupo alcohol, y los cuales representan probablemente los triterpenos más estudiados en cuanto a metabolismo y propiedades, siendo los más abundantes en las plantas el estigmasterol y el sitosterol, así mismo se pueden encontrar algunos esteroides en forma de glicósidos como los cardenolipidos y las saponinas, los cuales tienen importantes funciones en la medicina y en la industria (Ávalos y Pérez, 2009).

En la Figura 6, se muestra la estructura del compuesto estigmasterol (**61**) (Ávalos y Pérez, 2009).

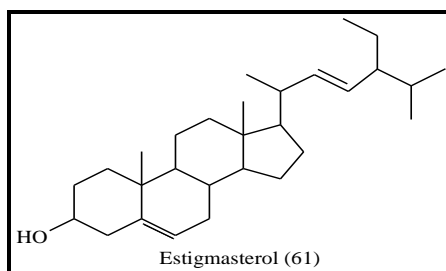


Figura 6. Estructura química del estigmasterol

Compuestos fenólicos.

Este grupo de sustancia presentes en los tejidos vegetales se caracterizan por tener uno o más grupos hidroxilo, libres o sustituidos, unidos a un anillo aromático, siendo el compuesto básico el fenol, encontrándose entre estos los polifenoles, que incluyen las quinonas, cumarinas, lignanos, estilbenos y flavonoides; y los polímeros fenólicos, como las ligninas y los taninos, todos estos importantes para el crecimiento y reproducción de las plantas (Sierra y col., 2018).

En el mismo sentido, estos metabolitos secundarios han generado gran interés en el ser humano, debido a sus posibles aplicaciones terapéuticas, como en la prevención y tratamiento del cáncer, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, y otras patologías, principalmente por presentar actividad antioxidante, tanto como captadores de radicales libres como quelantes de metales (Gimeno, 2004).

En la Figura 7, se muestra la estructura química del compuesto gingerol (62) (Ringuelet y Viña, 2013).

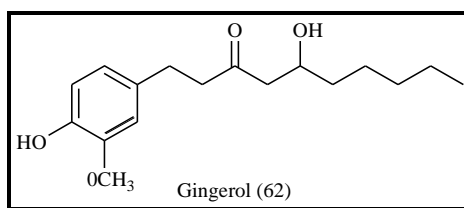


Figura 7. Estructura química del compuesto gingerol

Quinonas.

Las quinonas son moléculas biológicas muy abundantes en la naturaleza que forman parte de los compuestos fenólicos, son compuestos carbonílicos α - β insaturados, también, se pueden definir como moléculas con base aromática con dos grupos cetona, clasificándose según sus estructuras en benzoquinonas si son monocíclicas, naftoquinonas cuando sean bicíclicas y antroquinonas al tratarse de estructuras tricíclicas (Ochoa y Sarmiento, 2018).

Desde el punto de vista farmacológico, estos compuestos orgánicos han sido estudiados para evaluar distintos tipos de actividades biológicas, como actividad anticancerígena, antibacteriana, antiparasitaria, antiproliferativa, antiinflamatoria, antifúngica, buscando los mecanismos que justifiquen dichas actividades (Durán, Gaitán y Olivero, 2013).

En la Figura 8, se presenta la estructura química de la *p*-Benzoquinona (63) (Albornoz, 2001).

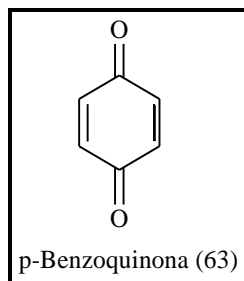


Figura 8. Estructura química de la *p*-Benzoquinona

Cumarinas.

Se trata de un grupo amplio de compuestos que pertenecen a la familia de las Benzopironas, cuya estructura química común es 2H-1-benzopiran-2-ona, y que se

encuentran en gran variedad de plantas medicinales, las mismas se clasifican en simples, furanocumarinas, piranocumarinas y diversas (Sierra y col., 2018).

Según Ochoa y Sarmiento (2018), este tipo de compuestos tienen gran interés en el ámbito terapéutico, ya que poseen variadas propiedades farmacológicas, como por ejemplo los efectos sobre el sistema vascular tanto arterial como venoso que ejerce la warfarina y el carbocromeno, o la actividad antibacteriana en el caso de la novobiocina.

En la Figura 9, se observa la estructura química del psoraleno (64) (Ávalos y Pérez, 2009).

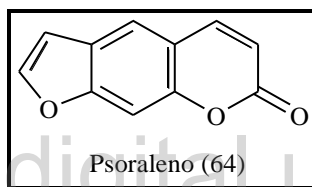


Figura 9. Estructura química del psoraleno

Flavonoides.

Se refiere a fenoles naturales que se pueden encontrar en forma de agliconas libres o como heterósidos, los cuales proceden del metabolismo secundario de las especies vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y policétidos, cuya unidad básica es un esqueleto de quince carbonos con dos anillos aromáticos (A y B) unidos entre sí por una cadena de tres carbonos ciclada mediante un oxígeno (anillo C), así mismo, según la estructura de este esqueleto base los flavonoides se pueden clasificar en flavanonas, dihidroflavonol, flaván-3,4-diol, flavonas, flavonoles, antocianinas, isómero de isoflavona, isómero de neoflavona, chalconas y auronas, siendo importante destacar la importancia terapéutica que tienen estos compuestos al poseer

propiedades farmacológicas como antihemorrágicos, antihepatotóxicos, antiarrítmicos, antioxidantes, antibacterianos, entre otras (Carrión y García, 2010).

En la Figura 10, se presenta la estructura de las isoflavonas (**65**) (Ringuelet y Viña, 2013).

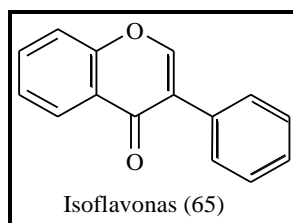


Figura 10. Estructura química de las isoflavonas

Taninos.

Son metabolitos secundarios de carácter fenólico, elevadas masas moleculares y estructuras complejas, así mismo su composición química difiere de un tanino a otro, no cristalizan y tienen un sabor muy astringente, encontrándose en la naturaleza dos grupos, los taninos hidrolizables y los condensados, siendo utilizados por las especies vegetales como mecanismo de defensa (Rojas, Jaramillo y Leumas, 2015).

Así mismo, este grupo de compuesto ha sido investigado desde el punto de vista farmacológicos comprobando diversos tipos de actividades biológicas, que se relacionan con su capacidad de unirse a las proteínas y combinarse con enzimas, entre estas la actividad antibacteriana, antiinflamatoria y antioxidante (Ochoa y Sarmiento, 2018).

En la Figura 11, se presenta la estructura del Floroglucinol (**66**) (Rugeiro, 2017).

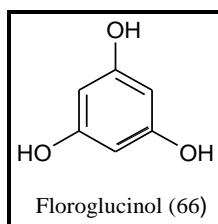


Figura 11. Estructura química del floroglucinol

Ligninas.

La lignina es un polímero complejo, ramificado, formado por derivados de fenilpropanoides como los alcoholes *p*-cumarílico, coniferílico y sinapílico, que son llamados monolignoles, así mismo pueden aparecer en su estructura pequeñas cantidades de intermediarios de la biosíntesis de estos monolignoles, constituyendo una de las sustancias orgánicas más abundantes en las plantas (Ringuelet y Viña, 2013).

En las especies vegetales cumple con diversas funciones, principalmente proveer de resistencia mecánica a los órganos de las plantas ya que se encuentra unida covalentemente a la celulosa y a otros polisacáridos de la pared celular, cumpliendo también con una función defensiva al inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos (Ávalos y Pérez, 2009).

En la Figura 12, se muestra la estructura química del alcohol cumarílico (67) (Ringuelet y Viña, 2013).

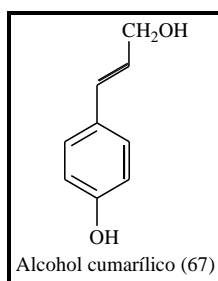


Figura 12. Estructura química del alcohol cumarílico

Glucósidos.

Se refiere a compuestos formados por un azúcar y otra molécula que no es un glúcido llamada aglicona o genina, que desempeñan funciones importantes en los organismos vivos, en las plantas cumplen funciones de reserva, cuando estas almacenan productos químicos en forma de glucósidos inactivos; por otra parte para el hombre representan una fuente de principios activos que ejercen distintas acciones terapéuticas, como los glucósidos cardíacos que actúan directamente en el músculo cardíaco siendo utilizadas por tanto en el tratamiento de enfermedades cardíacas (Sierra y col., 2018).

En la Figura 13, se muestra la estructura química de la arbutina **(68)** (Ávalos y Pérez, 2009).

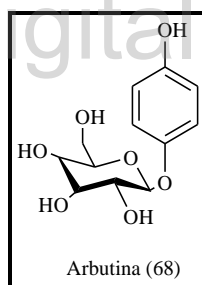


Figura 13. Estructura química de la arbutina

Alcaloides.

Los alcaloides son compuestos secundarios nitrogenados, ya que contienen uno o varios átomos de nitrógeno en su estructura, generalmente formando parte de un anillo heterocíclico; aislados principalmente de plantas, así como también de algunos animales, insectos y microorganismos, de reacción alcalina y derivados en su mayoría de aminoácidos como la lisina, tirosina, ornitina y triptófano (Ávalos y Pérez, 2009).

Este es uno de los grupos de compuestos de origen natural con mayor importancia desde el punto de vista terapéutico, ya que presentan propiedades fisiológicas y toxicológicas que se ejercen principalmente sobre el sistema nervioso central, siendo por esto utilizados como fármacos, entre estos la morfina (*Papaver somniferum*), la pilocarpina (*Pilocarpus*), la atropina (*Atropa belladona*), la efedrina (*Ephedra distachya*), la vincristina (*Catharanthus roseus*), entre otros, cuya síntesis depende del órgano de la planta (Ringuelet y Viña, 2013).

En la Figura 14, se observa la estructura química de laconiína (69) (Ringuelet y Viña, 2013).

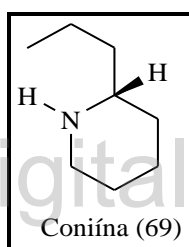


Figura 14. Estructura química de laconiína

Extracto vegetal.

Se trata de un concentrado conformado por una mezcla compleja de metabolitos secundarios, obtenidos por tratamientos de productos vegetales con solventes apropiados, que son utilizados por distintas áreas de la ciencia para investigar que compuestos están presentes en determinadas especies encontradas en la naturaleza, así como, establecer cuáles de ellos son responsables de otorgarles diversas propiedades, mismas que permiten su aplicación en diferentes sectores industriales (Albornoz, 2001).

Dado el caso, de los múltiples principios activos aislados de distintos tipos de extractos vegetales que cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos, que muestran actividades antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, anticancerígenas, antifúngicas, antiparasitarias, antialérgicas, entre otras, considerados por esto y su poco o nulo efecto tóxico, como una fuente potencial de nuevos fármacos (García, Martínez, Ortega y Castro, 2010).

Obtención de los extractos vegetales.

Para obtener los extractos del material vegetal existen diversas técnicas de extracción, entre las que se puede elegir, ya que cada una presenta ventajas y desventajas, relacionadas principalmente con aspectos como los componentes a extraer, el disolvente a utilizar, el tiempo y equipos que se emplean, entre otros (Ochoa y Sarmiento, 2018).

Es así como, para extraer compuestos orgánicos mediante el empleo de solventes se deben tomar en cuenta las analogías estructurales que hay entre la sustancia a extraer y el disolvente a utilizar, así como también la polaridad de los compuestos al considerar la solubilidad de un soluto en un solvente dado, siendo el método clásico la extracción continua del material vegetal en un equipo Soxhlet (Ringuelet y Viña, 2013).

Entre los métodos de extracción se encuentran:

Extracción continua (Método de Soxhlet).

Este método permite extraer los componentes químicos presentes en el material vegetal con mayor o menor grado de pureza, al colocar este material previamente molido y pesado, en la cámara de extracción del equipo Soxhlet, el cual está

conectado a un balón que contiene el disolvente que se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material. Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al balón de ebullición. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material (Ringuelet y Viña, 2013).

Maceración.

Este tipo de extracción consiste en colocar el material vegetal, previamente triturado en un recipiente de vidrio o acero inoxidable junto con un líquido solvente que generalmente es un alcohol, a temperatura ambiente, durante un periodo de tiempo definido, para luego filtrar y obtener los compuestos que sean solubles en el líquido de extracción, siendo el método más recomendable para extraer sustancias termolábiles (Sierra y col., 2018).

Percolación.

Consiste en el paso uniforme y en un mismo sentido de un solvente a través de la muestra vegetal pulverizada, mediante un recipiente denominado percolador, que permite obtener los componentes solubles de manera progresiva al dejar pasar nuevas proporciones del líquido (Carrión y García, 2010).

Decocción.

Este método permite obtener el extracto al colocar el material vegetal, que por lo general son las raíces, tallos o cortezas; en agua y llevarlos a ebullición hasta reducir el volumen original, luego se deja enfriar, se exprime y se cuela o se filtra (Albornoz, 2001).

Infusión.

Consiste en colocar el material vegetal en un recipiente de vidrio o porcelana, sobre el cual se vierte una cantidad de agua hirviendo que cubra el material y permita la acción extractiva por 10 o 15 minutos, para luego filtrar y dejar reposar, obteniendo así el extracto sin someterlo a ebullición (Albornoz, 2001).

Digestión.

Esta forma de maceración, involucra aplicar calor moderado al material vegetal previamente pulverizado, con el fin de aumentar el poder disolvente, utilizado especialmente en aquellas partes vegetales más duras, o que contienen sustancias poco solubles (Albornoz, 2001).

Estudio Fitoquímico.

Las ciencias que se relacionan con las especies vegetales, emplean como herramienta la fitoquímica, disciplina que se encarga de estudiar los componentes químicos de las plantas, para conocer sus estructuras químicas, metabolismo, distribución natural, función biológica, así como la evaluación cualitativa y cuantitativa de las mismas (Ringuelet y Viña, 2013).

Para el estudio fitoquímico de las plantas se debe tener en cuenta que la composición química varía entre las diferentes especies, en sus distintas partes y según sus estados fenológicos, además de otros aspectos, para recolectar de manera correcta el material a estudiar, y así identificar nuevas sustancias presentes en las plantas o para analizar sustancias ya conocidas obtenidas de especies en las que no habían sido determinadas anteriormente, mediante diversos métodos que pueden ser histológicos, químicos, fisicoquímicos y biológicos (Ringuelet y Viña, 2013).

Algunas de las pruebas que permiten llevar a cabo el tamizaje fitoquímico son:

Ensayo de Liebermann–Burchard.

Este ensayo permite identificar triterpenoides y esteroides, al darse una reacción donde el esteroide se oxida por la presencia de ácido sulfúrico que forma una molécula que contiene un doble enlace adicional, constituyendo un ensayo positivo cuando se da el cambio de coloración, que va de azul a un azul verdoso para las estructuras esteroidales, y de rojo a púrpura para las triterpénicas (Bermejo, Pereira, Cintra y Morales, 2014).

Ensayo de Dragendorff.

Esta prueba consiste en tratar el extracto vegetal con ácido clorhídrico para luego adicionar el reactivo de Dragendorff y, de esta manera obtener el precipitado anaranjado característico que revela la presencia de alcaloides (Ochoa y Sarmiento, 2018).

Ensayo de Wagner y Mayer.

Los reactivos de Mayer y Wagner precipitan la mayoría de los alcaloides en medio ácido favoreciendo la formación de precipitados cristalinos de color blanco o rojos que indican presencia de alcaloides en la muestra (Ochoa y Sarmiento, 2018).

Ensayo de cloruro férrico.

Esta prueba revela la presencia de compuestos fenólicos o taninos, al utilizar el extracto etanólico de la planta se determinan tanto fenoles como taninos, y con el extracto acuoso fundamentalmente taninos, siendo positivo el ensayo al formarse ciertas coloraciones según el tipo de compuesto (Sierra y col., 2018).

Ensayo de Shinoda.

Este ensayo permite la identificación de flavonoides mediante la reacción del magnesio en medio ácido, que reduce el flavonoide dando lugar al producto coloreado que va del rojo al violeta (Ochoa y Sarmiento, 2018).

Ensayo de la espuma.

El ensayo consiste en agitar una solución acuosa de la muestra y, observar la formación de una espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y que persista por más de 2 min, lo que indica la presencia de saponinas (Bermejo y col., 2014).

Ensayo de la gelatina.

Esta prueba permite detectar taninos, ya que estos poseen la propiedad de reaccionar con las proteínas presentes en el reactivo gelatina-sal y formar un precipitado de color blanco (Ochoa y Sarmiento, 2018).

Ensayo del hidróxido de amonio.

Mediante este ensayo podemos determinar la presencia de quinonas al adicionar a una pequeña porción de cada extracto disuelto en etanol, unas gotas de hidróxido de amonio concentrado, siendo positiva la prueba al observar una coloración roja (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo para cumarinas.

Al adicionar 2 gotas de hidróxido de amonio concentrado se considera positiva la prueba si se presenta una fluorescencia azul-violeta bajo luz UV (Marcano y Hasegawa, 2002).

Determinación del contenido de polifenoles totales en el extracto etanólico de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I. M. Johnst.

Los compuestos fenólicos son un grupo heterogéneo de productos, derivados del metabolismo secundario de las plantas, siendo unos de los más abundantes en el reino vegetal; el compuesto básico es el fenol pero la mayor parte de estos son polifenoles, que se caracterizan por presentar uno o más anillos aromáticos unidos a uno o más grupos hidroxilo, libres o sustituidos, pudiendo ser clasificados de acuerdo al número de átomos de carbono presentes en conjunción con la estructura fenólica básica, destacando entre estos las quinonas fenólicas, las cumarinas, los flavonoides, los ácidos fenólicos, los taninos, los lignanos y estilbenos (Rugerio, 2017).

En las plantas, estos compuestos cumplen funciones esenciales en cuanto a crecimiento y reproducción, tienen acción como antibióticos, pesticidas naturales, agentes protectores de rayos UV y aislantes en las paredes celulares; en los alimentos de origen vegetal contribuyen a la estabilidad oxidativa y son en parte responsables de algunas propiedades organolépticas, como amargor, astringencia, color, sabor y olor (Rugerio, 2017).

Los polifenoles son uno de los grupos de micronutrientes presentes en las plantas, que forman parte importante de la dieta humana, ya que están presentes en frutas, vegetales, cereales y en algunas bebidas como el café, los mismos son estudiados por las actividades biológicas que se les atribuyen, enfocados especialmente en sus propiedades antioxidantes, así como en sus posibles aplicaciones benéficas para la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades

cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio (García, Fernández y Fuentes, 2015).

Se ha determinado que los compuestos fenólicos pueden modular la respuesta de una amplia gama de receptores enzimáticos y celulares, contribuyendo así con la prevención y tratamiento de enfermedades, a través de, efectos vasodilatadores, antiinflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, efectos estrogénicos, o inhibición de enzimas pro-oxidantes, así mismo, en relación a su carácter antioxidante, los polifenoles tienen la habilidad para quelar metales, inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres (García y col., 2015).

Teniendo en cuenta que, la cantidad de compuestos polifenólicos y tipos presentes en un alimento varía en función de la especie vegetal, y parte del vegetal considerada (fruto, semillas, brotes, hojas), horas de exposición solar, grado de madurez, condiciones de cultivo y condiciones de almacenamiento (García y col., 2015).

Método Folin–Ciocalteu para la determinación de polifenoles.

Este ensayo permite medir el contenido de compuestos fenólicos totales en productos vegetales, empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual reacciona con los compuestos fenólicos a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por

los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido en polifenoles (García y col., 2015).

Este método preciso y sensible, puede padecer numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción, sin embargo, el mecanismo de reacción es una reacción redox, por lo que además puede considerarse también, como un método de medida de la actividad antioxidante total. La oxidación de los polifenoles presentes en la muestra, causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico. En la Figura15, se muestra la reacción de Folin-Ciocalteu (García y col., 2015).

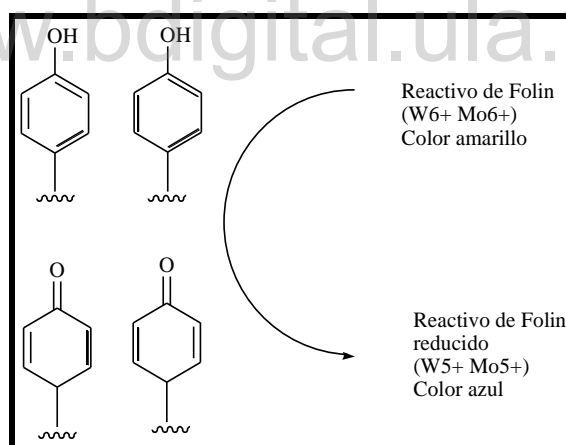


Figura 15. Reacción química de Folin-Ciocalteu

Actividad antioxidante de los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I. M. Johnst por el método DPPH.

Los antioxidantes naturales en general, están constituidos por compuestos con elevada diversidad molecular y funcionalidad biológica, los mismos previenen, retardan o inhiben la oxidación de dos formas, una de ellas consiste en captar los

radicales libres y la otra forma, incluye mecanismos como la unión con metales pesados, captación del oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicales, entre otros (Aldana y Guayasamín, 2014).

Siendo importante señalar que, los radicales libres son especies químicas sintetizadas fisiológicamente en el organismo humano como parte de la generación de energía, que poseen en su estructura uno o más electrones desapareados, convirtiéndolos en compuestos altamente inestables, cuya producción se incrementa frente a diferentes agresiones (Bohórquez, 2016).

Estos radicales libres actúan sobre distintos tipos de compuestos como ácidos nucleicos, carbohidratos, lípidos, sustrayendo electrones para poder alcanzar su estabilidad electroquímica, por lo que los organismos utilizan sistemas antioxidantes como mecanismo de defensa, a nivel bioquímico esta defensa puede ser enzimática, constituida por enzimas como la catalasa y la superóxido dismutasa, o no enzimática, entre la que se encuentran compuestos como betacaroteno, glutatión reducido, vitamina C y E, entre otros, ya que si la oxidación no se detiene puede provocar el denominado estrés oxidativo (Echavarría, Franco y Martínez, 2009).

Desde el punto de vista fitoquímico, los antioxidantes que se encuentran en las especies vegetales pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas, siendo los compuestos fenólicos los principales grupos que revelan una gran capacidad antioxidante, ya que estos se oxidan más rápido que otros compuestos (Bohórquez, 2016).

Debido a que, los radicales libres y el estrés oxidativo se han asociado a diversas patologías como cáncer, arteriosclerosis, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, entre otras; y dado el efecto beneficioso de los antioxidantes que ha sido descrito, cada vez son más las investigaciones que se realizan en las plantas, para descubrir nuevos y efectivos antioxidantes, por la gran diversidad de especies y compuesto que estas presentan (Mesa y col., 2015).

Para medir la actividad antioxidante han sido desarrollados diversos métodos, que se basan en la capacidad de estos compuestos para captar radicales libres, entre los que están el 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH), ácido 2, 2', azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS), la reacción con el óxido nitroso (test NO), dicloridrato de N, N-Dimetil-*p*-fenilendiamina (DMPD), generación de radicales peroxilo, superóxido e hidroxilo (Ramos, Castañeda e Ibáñez, 2008).

Los métodos empleados para determinar la actividad antioxidante de los compuestos presentes en las especies vegetales permiten evaluarlos como grupo funcional, como grupo de antioxidantes o antioxidantes individuales. Específicamente el método DPPH (2, 2-Difenil-1-picrilhidrazilo) analiza los antioxidantes como grupo funcional cuantificados como la capacidad antioxidante total (Zenil y col., 2014).

Mediante este método colorimétrico desarrollado por Brand-Williams en 1995, se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH, ya que estos tienen un electrón desapareado que es de color azul-violeta y que se decolora a un amarillo pálido cuando reacciona con una sustancia antioxidante, que puede donar un átomo de hidrogeno, midiendo las absorbancias a 517 nm (Aldana y Guayasamín, 2014).

En la Figura 16, se puede observar la reacción química entre el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y una molécula antioxidante.

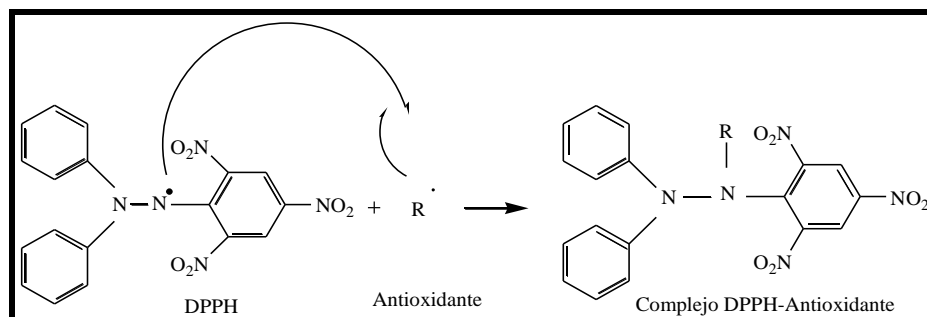


Figura 16. Reacción química entre el radical DPPH y una molécula antioxidante

Generalmente, los resultados se expresan como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria (IC_{50}), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50 %, el cual se calcula graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto (Bohórquez, 2016).

Este método es uno de los más utilizados en investigaciones de actividad antioxidante, siendo modificado en muchas ocasiones por los autores, al cambiar aspectos relacionados con la concentración de DPPH, el tiempo de incubación, la relación entre el DPPH y la muestra, entre otros (Jiménez, Sánchez y Martínez, 2012).

Toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *Cnidocolus aconitifolius* frente a *Artemia salina*.

Las plantas medicinales poseen gran variedad de compuestos, algunos de ellos son los responsables de sus propiedades beneficiosas, sin embargo otros pueden ser tóxicos, por lo que es necesario estudiar cuales podrían provocar efectos graves en los

organismos vivos, utilizando para esto los ensayos de toxicidad, que permiten determinar aspectos como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos evaluados por la reacción de los organismos de prueba (Ochoa y Sarmiento, 2018).

En algunos ensayos de toxicidad se emplean los crustáceos pertenecientes al género *Artemia*, el cual está constituido por especies como *Artemia salina* Leach, *Artemia urmiana*, *Artemia persimilis* Piccinelli y Prosdocimi, *Artemia franciscana* Kellogg, conocidos comúnmente como Artemias o monos de mar, y que se encuentran distribuidos alrededor del mundo en aguas de elevada salinidad, en donde pueden crecer a temperaturas entre 6 y 35 °C (Pino y Jorge, 2010).

En la Tabla 5, se muestra la taxonomía de la especie *Artemia salina*

www.bdigital.ula.ve

Tabla 5
Taxonomía de la especie *Artemia salina* (Dumitrascu, 2011)

Reino:	Animalia
Filo:	Arthropoda
Subfilo:	Crustacea
Clase:	Branchiopoda
Orden:	Anostraca
Familia:	Artemiidae
Género:	<i>Artemia</i>
Especie:	<i>Artemia salina</i>

Específicamente, *Artemia salina* es un artrópodo acuático primitivo, cuyo cuerpo está conformado por tres segmentos que corresponden a cabeza, tórax y abdomen, miden alrededor de 10 mm, y su color depende de las concentraciones de sal, se desarrollan en lagos y estanques con altas concentraciones de sal, además, sobreviven en aguas con deficiencia de oxígeno, sin embargo, cuando las condiciones no son

favorables para su desarrollo y reproducción, los huevos se transforman en quistes hasta que las condiciones sean adecuadas y se conviertan en larvas.

En la Figura 17, se muestra el artrópodo *Artemia salina* (Dumitrascu, 2011).



Figura 17. Artrópodo *Artemia salina*

Las larvas de *A. salina* son utilizadas en las pruebas de toxicidad ya que, son sensibles a una gran variedad de extractos y sustancias químicas de especies vegetales, dichas pruebas consisten en exponer cierto número de larvas a diferentes concentraciones de los extractos a evaluar, durante 24 horas para determinar la DL₅₀ expresada en $\mu\text{g/mL}$, constituyendo una herramienta valiosa al ser una prueba repetible y reproducible, que no necesita equipamiento ni entrenamiento especial, es rápida y se emplean pequeñas cantidades de muestras, además, los investigadores a través del tiempo han podido realizar modificaciones al procedimiento para mejorar el rendimiento del ensayo (Miranda y col., 2016).

Definición operacional de términos

Radical libre.

Es una especie química con uno o más electrones desapareados en sus orbitales de valencia, y dada su configuración electrónica, son inestables y extremadamente

reactivos, tendiendo a captar un electrón disponible de alguna molécula o átomo, con el objetivo de alcanzar su estabilidad electrónica, a su vez la molécula que cede el electrón se convierte en un radical libre, iniciándose así una reacción en cadena (Amaya y Portillo, 2013).

Porcentaje de Inhibición (% I).

Es la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, siendo esta inhibición proporcional a la actividad antioxidante de la muestra (Muñoz y Gutiérrez, 2009).

Concentración máxima de la media inhibitoria (IC₅₀).

Concentración de antioxidante que produce la inhibición del 50 % del DPPH (Bohórquez, 2016).

Dosis letal 50.

Es la cantidad de un material tóxico letal al 50 % de los organismos de la prueba (Pino y Jorge, 2010).

Definición operacional de las variables de investigación

En la Tabla 6 se muestra la definición operacional de variables.

Tabla 6

Definición operacional de las variables de investigación

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Composición química	Independiente	Comprende las pruebas químicas que se realizan para determinar los componentes químicos presentes en las plantas, con el fin de detectar los metabolitos relacionados con alguna actividad biológica (Sierra y col., 2018).	Mediante tamizaje fitoquímico	Presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, triterpenos, glucósidos, quinonas.	Aparición de un precipitado, turbidez, espuma o coloración.
Contenido de polifenoles totales	Dependiente	Determinación de los compuestos fenólicos que reaccionan con el reactivo Folin-Ciocalteu a pH básico, se observa color azul y se mide espectrofotométricamente a 765 nm (García y col., 2015).	Mediante cuantificación de fenoles totales	Presencia de compuestos fenólicos, taninos, polifenoles, flavonoides, entre otros.	Contenido de fenoles totales expresados en µg de ácido gálico/mg de extracto
Actividad antioxidante	Dependiente	Consiste en la capacidad que poseen ciertos compuestos para evitar o inhibir el deterioro oxidativo provocado por los radicales libres al reaccionar con estos (Mesa y col., 2015).	Método de DPPH	Compuestos fenólicos, flavonoides, taninos.	% de inhibición IC ₅₀
Toxicidad frente a <i>Artemia salina</i>	Dependiente	Es un ensayo que permite evaluar la toxicidad de extractos y productos aislados de plantas sobre larvas de <i>Artemia salina</i> , que son sensibles a gran variedad de compuestos químicos (Jaramillo y col., 2016).	Mediante la exposición de los nauplios de <i>Artemia salina</i> a los extractos naturales, para determinar valores de dosis letal 50 (DL ₅₀).	Extremadamente tóxico Altamente tóxico Moderadamente tóxico Ligeramente tóxico Prácticamente no tóxico Relativamente inocuo	% de letalidad Valores de DL ₅₀

Hipótesis

La especie *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst, perteneciente a la familia Euphorbiaceae presenta una gran variedad de compuestos químicos que se relacionan con los usos y efectos farmacológicos que se le atribuyen en distintas partes del mundo, por lo que es posible que los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*, recolectada en el estado Mérida Venezuela, presenten actividad antioxidante, alto contenido de polifenoles totales y no presenten toxicidad sobre *Artemia salina*.

Hipótesis Nula

La especie *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I.M. Johnst, perteneciente a la familia Euphorbiaceae presenta una gran variedad de compuestos químicos que se relacionan con los usos y efectos farmacológicos que se le atribuyen en distintas partes del mundo, por lo que es posible que los extractos de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, recolectada en el estado Mérida Venezuela, no presenten actividad antioxidante, contenido de polifenoles totales y presenten toxicidad sobre *Artemia salina*.

CAPÍTULO III

Marco Metodológico

De acuerdo con Pallela y Martins (2012), la metodología es una guía procedimental, que provee de pautas lógicas pertinentes para desarrollar y coordinar operaciones destinadas a la consecución de los objetivos planteados, por lo que, a continuación, se describe como se llevó a cabo esta investigación:

Tipo de Investigación

El tipo de investigación indica cual es el estudio a realizar, ya que establece como se van a recoger los datos o información necesaria para alcanzar el logro o meta del estudio, relacionándose con el grado de profundidad del mismo, por lo que determina los niveles a desarrollar para dar respuesta al problema. En particular, esta investigación es de tipo confirmatorio, debido a que se trata de las posibles relaciones entre eventos a partir del control de una serie de variables, así pues, en el presente se estudió la composición química de *C. aconitifolius* y su actividad biológica con el fin de comprobar la relación que existe entre ambas (Pallela y Martins, 2012).

Diseño de la investigación

Según Hernández y col. (2010), el diseño de la investigación comprende las estrategias que permiten dar respuesta a las preguntas de investigación, cumplir con los objetivos del estudio, así como someter las hipótesis a prueba, al obtener la información que se requiere. Esta investigación es experimental, ya que en este tipo de diseño se elige o se realiza una acción para luego observar las consecuencias o

analizar los posibles resultados, es decir existe una causa que constituye la variable independiente y se obtiene un efecto que representa la variable dependiente.

Por lo tanto, esta investigación se efectuó con un diseño experimental, ya que la especie vegetal fue sometida a determinados tratamientos, para observar los efectos y reacciones. El estudio se realizó en: Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones, en el Departamento de Ciencia de Los Alimentos y Departamentos de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes, en un lapso de tiempo determinado.

Población y muestra

Según Arias (2006), la población en una investigación se refiere al conjunto de unidades que pueden ser elementos, personas o cosas pertinentes a la misma, siendo finito o infinito, del cual se desea obtener información y sobre el que se van a generar conclusiones. La población en la investigación está conformada por la especie del género *Cnidoscolus* perteneciente a la familia Euphorbiaceae.

En cuanto a la muestra, Hernández y col. (2010) se refieren a esta como un subgrupo de la población de interés sobre el cual se recolectan datos, la misma debe delimitarse con precisión y ser representativa de la población, ya que los resultados que se obtengan de la muestra tienen que generalizarse o extrapolarse a dicha población. En esta investigación, la muestra fue la planta de la especie *Cnidoscolus aconitifolius*, que se recolectó en el jardín botánico de la Facultad de Farmacia y

Bioanálisis, estado Mérida (Venezuela), la muestra a su vez está constituida por tallos, hojas y flores.

Instrumento de recolección de datos

Pallela y Martins (2012), establecen que después de seleccionar el diseño de investigación y la muestra adecuada, se deben implementar técnicas o instrumentos de recolección de datos, que son las distintas formas o maneras de obtener la información. La recolección de datos se hizo con cuadernos de trabajos, para llevar los registros de los resultados de cada prueba realizada, con el fin de elaborar tablas las cuales permiten llevar a cabo el reporte de los datos obtenidos en la investigación en un orden lógico y secuencial.

Procedimientos de la investigación

Recolección del material vegetal.

Las partes aéreas de *Cnidocolus aconitifolius* (Mill.) I.M Johnst se recolectaron en la Parroquia Domingo Peña, Sector Campo de Oro, detrás del IAHULA, en el Jardín de Plantas Medicinales de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, a una altitud de 1630 msnm.

Se tomaron los tallos, hojas y flores para su identificación y elaboración de un vaucher. La planta fue identificada botánicamente por el Ing. Juan Carmona, adscrito al Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Se depositó una muestra para el vaucher en el herbario MERF “Dr. Luis Enrique Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Municipio Libertador estado Mérida. Identificado con el número 08, de la colección de M. Morillo.

Preparación de los extractos vegetales.

Para esta investigación se tomó aproximadamente 350 g del material vegetal, el cual fue secado en una estufa a 45° C por 48 horas. Luego se procedió a pesar el material vegetal seco en la balanza Denver instrumental XL3100, obteniendo un peso de 41,58 g; este material fue molido para ser pesado nuevamente, obteniendo como resultado 38,85 g. Posteriormente se tomaron los 38,85 g del material seco y molido y se colocó en un balón con 150 mL de hexano, el cual se procesó en el extractor Tesavi 3 PN 1010 durante una hora, se filtró y se evaporó el solvente, usando el rotaevaporador IKA RV 10 digital a 45 °C, este procedimiento se realizó de la misma forma con diclorometano y etanol. En la figura 18, se puede observar parte del proceso de obtención de los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*.



Figura 18. Obtención de los extractos de las partes aéreas de *C. aconitifolius*

Finalmente, se pesaron cada uno de los extractos obtenidos en la balanza RADWAG, max 310 g d= 0,1 mg, obteniendo como resultados: 1,2548 g (rendimiento de 3,23 %) del extracto hexanoico; 0,4245 g (rendimiento de 1,09 %) del extracto diclorometano y 2,0956 g (rendimiento de 5,39 %) del extracto etanólico, todos se almacenaron en frascos ámbar tarados, herméticamente cerrados y rotulados.

Tamizaje fitoquímico.

La determinación de la composición química a través de tamizaje fitoquímico, se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis ULA, bajo la supervisión de la profesora Marielba Morillo.

Para la determinación de ciertos compuestos químicos presentes en los extractos de *Cnidoscolus aconitifolius*, se realizaron una serie de pruebas químicas:

Terpenos y/o esteroides.

Ensayo de Lieberman – Burchard

Técnica:

Se disolvieron los tres extractos en 0,5 mL de diclorometano anhidro, se añadió 0,5 mL de anhídrido acético y se procedió a agregar cuidadosamente por las paredes del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se consideró positiva la prueba cuando apareció una coloración roja o verde.

Alcaloides.

Ensayo de Dragendorff, Wagner y Mayer

Técnica:

Se agregó aproximadamente 100 mg del extracto etanólico en un tubo de ensayo, y se le adicionó 5 mL de HCl 10 %, se colocó el tubo en baño de maría hasta ebullición por 30 minutos. Luego se filtró y se distribuyó en tres tubos de ensayo, además se le adicionó a cada tubo gotas del reactivo correspondiente (Dragendorff, Wagner y Mayer), la aparición de turbidez o un precipitado, indica la positividad de las pruebas.

Saponinas.

Ensayo de la espuma

Técnica:

Se colocó en un tubo una pequeña cantidad de cada uno de los extractos y se le adicionó 1 mL de agua, se agitó vigorosamente durante un minuto. La formación de una espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y que persista por más de 2 min, indica la presencia de saponinas.

Taninos.

Prueba de la gelatina

Técnica:

Se disolvió el extracto etanólico en agua, aparte se preparó una solución al 10 % de gelatina y se puso en contacto con el extracto acuoso. La producción de

desnaturalización de la proteína que se evidenció con la presencia de un precipitado o la ruptura de la gelatina, indica la positividad de la prueba.

Flavonoides.

Ensayo de Shinoda

Técnica:

Se colocó 1 mL de solución de cada extracto, en los tubos de ensayo, se le añadieron algunas virutas de magnesio (Mg), luego se adicionó cuidadosamente por la pared de cada tubo unas gotas de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. La aparición de color naranja se considera una prueba positiva.

Polifenoles.

Prueba con FeCl_3

Técnica:

A 1 mL de solución alcohólica de los extractos diclorometanoico y etanólico, en un tubo de ensayo, se le agregó una gota de solución acuosa de cloruro férrico al 10 %. La formación de color azul o verde indica la presencia de fenoles.

Quinonas.

Técnica:

Se adicionaron 2 gotas de hidróxido de amonio concentrado a los tres extractos, cada uno disuelto en etanol en un tubo de ensayo respectivamente. La prueba se

considera positiva al presenciarse una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos.

Cumarinas.

Técnica:

Se agregaron 2 gotas de hidróxido de amonio concentrado a cada uno de los tres extractos en su tubo de ensayo. La prueba se considera positiva al presentarse una fluorescencia azul- violeta bajo luz UV.

Determinación de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu.

La determinación de los polifenoles totales se llevó a cabo en el Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos y en el Instituto de Investigaciones de La Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la supervisión de las Profesoras: María Eugenia Rondón y Marielba Morillo.

Procedimiento:

Se inició preparando la solución de ácido gálico en un matraz aforado, disolviendo 50 mg de ácido gálico en 100 mL de etanol (o acetona: agua 1:1 v/v), esta solución debe conservarse en refrigeración.

Luego se preparó la solución de carbonato de sodio 0.7 M y se disolvió en 74,19 g de carbonato de sodio en 800 mL de agua desmineralizada, llevándose a ebullición. Se dejó enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente y se completó hasta 1 L (1000 mL) de agua.

Se elaboró una curva de calibración preparando una solución inicial del patrón (ácido gálico) a 50 mg/L, para tal fin, se diluyó 10 mL de la solución madre de ácido gálico hasta 100 mL con etanol (o acetona: agua 1:1 v/v) (Ainsworth y Gillespie, 2007).

En la Tabla 7 se muestran las diferentes concentraciones de ácido gálico, con las que se construyó la curva de calibración, y las diferentes proporciones en mL de los diferentes componentes de la reacción de Folin-Ciocalteu.

Tabla 7
Diferentes concentraciones de ácido gálico con la que se construyó la curva de calibración

Componentes de la Reacción	Concentración en mg/L					
	0	10	20	25	40	50
Solución de patrón ácido gálico	0	0,2	0,4	0,5	0,7	0,8
Etanol (acetona/agua 1:1) (mL)	1	0,8	0,6	0,5	0,2	0
Reactivo Folin-Ciocalteu (mL)	2	2	2	2	2	2
Reactivo carbonato-tartrato (mL)	8	8	8	8	8	8

Procedimiento.

Mezclar bien los tubos, utilizando un agitador vortex, colocarlos en la oscuridad, esperar 30 minutos para que se desarrolle el color azul y efectuar las lecturas en el espectrofotómetro a 760 nm. Trazar la curva de calibración concentración/absorbancia (Ainsworth y Gillespie, 2007).

Análisis de los extractos: tomar 1 mL de la muestra filtrada y añadir 2 mL de Rx Folin- Ciocalteu y a los dos minutos 8 mL de solución de carbonato de sodio, esperar 30 minutos para que se desarrolle el color. Efectuar la lectura en el espectrofotómetro

a 760 nm y extrapolar los valores de absorbancia en la curva de calibrado para obtener los valores de concentración de compuestos fenólicos en el extracto (Ainsworth y Gillespie, 2007).

Estudio Estadístico.

Los datos fueron estudiados estadísticamente utilizando el programa IBM SPSS Statistic editor de datos, versión 21.

Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH.

El ensayo para la determinación de la actividad antioxidante de la especie en estudio por el método DPPH, se llevó a cabo en el Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la supervisión de la Dra. Marielba Morillo.

Se realizó un barrido inicial de los extractos obtenidos de la misma para comprobar si tienen la actividad antioxidante. Para ello se tomó cierta cantidad de cada uno de los extractos en tubos Eppendorf y se disolvieron en metanol. El ensayo se realizó por triplicado utilizando 3 tubos para cada uno de los extractos, los cuales contenían 700 μL de DPPH y 300 μL del extracto, estos se dejaron en reposo durante 30 minutos en la oscuridad. Luego de los 30 minutos se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm.

De los extractos que presentaron actividad antioxidante en el barrido inicial, es decir un porcentaje de inhibición (% I) mayor o igual a 50, se prepararon soluciones

madre de concentración de 1 mg/mL y a partir de la misma se prepararon varias diluciones y se procedió a determinar la actividad antioxidante (Tabla 8).

Se realizó una curva patrón de ácido ascórbico partiendo de una solución madre.

En la Tabla 8, se muestran las diluciones para preparar una solución madre de concentración 1 mg/mL. En la misma se muestra las cantidades en μL de la solución madre y metanol.

Tabla 8

Diluciones empleadas para preparar la solución madre del extracto a una concentración 1 mg/mL (1000 ppm)

	500 $\mu\text{g/mL}$	250 $\mu\text{g/mL}$	125 $\mu\text{g/mL}$	62,5 $\mu\text{g/mL}$	31,25 $\mu\text{g/mL}$
Solución madre (1mg/mL)	500 μL	250 μL	125 μL	62,5 μL	31,25 μL
Metanol	500 μL	750 μL	875 μL	937,5 μL	968,75 μL

Las diluciones para realizar la curva del ácido ascórbico se muestran en la Tabla 9. Donde se pueden observar las diferentes proporciones en μL de solución madre y metanol.

Tabla 9

Diluciones empleadas para realizar la curva patrón de ácido ascórbico

	Concentración $\mu\text{g/mL}$			
	100	75	50	25
Solución madre (176 $\mu\text{g/mL}$)	568,2 μL	426,1 μL	284,1 μL	142,1 μL
Metanol	431,8 μL	573,9 μL	715,9 μL	857,9 μL

Finalmente, se determinó el % de inhibición y el IC_{50} en (mg/mL) de cada uno de los extractos.

Estudio Estadístico.

Los datos fueron estudiados estadísticamente utilizando el programa IBM SPSS Statistic editor de datos, versión 21.

Evaluación de toxicidad frente a Nauplios de *Artemia salina*.

El ensayo de toxicidad frente a los nauplios de *Artemia salina* del extracto etanólico de las partes aéreas de *Cnidocolus aconitifolius*, se realizó en el Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la supervisión de la Dra. Marielba Morillo y el Dr. Tomás Visbal. Este método estándar se basó en la determinación de la concentración o dosis que causa la muerte al 50 % de la población de larvas de este crustáceo en 24 horas, siendo conocida esta dosis como dosis letal 50 (DL₅₀).

En cuanto a los reactivos utilizados en este método, los mismos fueron: cloruro de sodio (NaCl), sulfato de magnesio hexahidratado (MgSO₄·6H₂O), cloruro de magnesio hexahidratado (MgCl₂·6H₂O), cloruro de potasio (KCl), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), carbonato de sodio (Na₂CO₃), cloruro de calcio (CaCl₂) y dodecil sulfato de sodio [CH₃(CH₂)₁₀CH₂OSO₃Na] conocido como lauril sulfato sódico, levadura comercial, quistes del crustáceo *Artemia salina*.

Procedimiento.

Primero se preparó una solución marina (agua de mar artificial), que proporcionó las condiciones para el desarrollo de los nauplios de *Artemia*, la misma se mantuvo en aireación durante setenta y dos horas con la finalidad de oxigenarla. La composición de la solución marina se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10
*Composición del agua de mar artificial, usada en el cultivo y
 eclosión de los quistes de A. salina (Kinne, 1971)*

Sales	g/L
Cloruro de Sodio (NaCl)	27,65
Sulfato de Magnesio hexahidratado (MgSO ₄ x 6H ₂ O)	14,29
Cloruro de Magnesio hexahidratado (MgCl x 6H ₂ O)	5,18
Cloruro de potasio (KCl)	0,679
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	0,143
Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃)	0,035
Cloruro de calcio (CaCl ₃)	1,54
Agua destilada	1000mL

Después de la aireación de la solución marina, esta se dividió en dos erlenmeyers con 500 mL aproximadamente cada uno, en una de las fiolas se añadió de 150-200 mg de quistes manteniendo una temperatura constante de 28 ± 2 °C por 48 horas (tiempo necesario para su eclosión); la solución contenida en el otro erlenmeyer se utilizó como diluyente para preparar las diluciones del extracto etanólico y llenado de las placas (ambos recipientes se mantuvieron en aireación constante).

El bioensayo se realizó en placas de microtitulación, a cada pozo se le adicionó 130 µL de solución salina (aireada), para luego colocar aproximadamente quince larvas con una micropipeta, y ya que estas larvas presentan fototropismo, se iluminó una zona del envase que las contenía para concentrarlas y facilitar su recolección, tomando un volumen de 10 µL de la solución con larvas. Posteriormente se adicionó a cada pozo 10 µL de levadura comercial. Las placas se incubaron en un área con

iluminación permanente por 24 horas, para excitar su actividad metabólica. Transcurrido este tiempo de incubación se colocaron 50 µL del extracto etanólico a evaluar, a distintas concentraciones (5, 25, 250, 750, 1250 y 2500 ppm). El extracto se diluyó con DMSO y solución marina (1:9), además se incluyó, un grupo control negativo (con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra a ensayar) y un grupo control positivo (Dodecil sulfato de sodio [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$] (DSS)), con seis replicas para cada grupo.

Durante el bioensayo se registró el número de nauplios puestos inicialmente en cada pozo (NV), y al cabo de 24 horas de contacto con los extractos ensayados se realizó el conteo del número de nauplios muertos (NM) para determinar la dosis letal 50 con un intervalo de confianza del 95 %, utilizando el método de análisis Probit, con el software SPSS 15.0 para Windows (Meyer y col, 1982).

Además, se calculó el porcentaje de letalidad mediante la ecuación (Sanchez y Neira, 2005; Apu y col, 2013)

$$\% \text{ Letalidad} = \frac{NM}{NV} \times 100$$

NM=Número de muertos NV=Número de vivos

Finalmente, la DL₅₀ de los extractos y de los blancos evaluados se clasificó según la toxicidad, tomando como referencia las recomendaciones del Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), mostradas en la Tabla 11.

Tabla 11
Clasificación de toxicidad según el CYTED (Sánchez y Neira, 2005)

Concentración DL50 µg/mL	Categoría
1-10	Extremadamente tóxico
10-100	Altamente tóxico
100-500	Moderadamente tóxico
500-1000	Ligeramente tóxico
1000-1500	Prácticamente no tóxico
>1500	Relativamente inocuo

Estudio Estadístico.

El estudio estadístico se realizó con el programa IBM SPSS Statistic editor de datos, versión 21. Los datos fueron estudiados estadísticamente a través de análisis de regresión PROBIT.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO IV

Resultados y Discusión

Estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*

Las diversas pruebas realizadas en el laboratorio, permitieron determinar la composición química cualitativa de los extractos de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, encontrando la presencia de los siguientes compuestos: esteroides, en los extractos hexanoico y diclorometanoico, y por otra parte, alcaloides, esteroides, terpenos, polifenoles, flavonoides y taninos en el extracto etanólico.

En la Tabla 12 y Figura 19, se presentan los resultados del estudio fitoquímico de los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*.

Tabla 12
Estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de Cnidoscolus aconitifolius.

Metabolitos secundarios	Pruebas	Extractos		
		Hexanoico	Diclorometanoico	Etanólico
Alcaloides	Dragendorf	nd	nd	+
	Wagner			+
	Mayer			+
Esteroides	Liebermann-Burchard	+++	+++	+++
Terpenos	Liebermann-Burchard	-	-	+++
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	nd	-	+++
Flavonoides	Shinoda	-	-	++
Saponinas	Prueba de la espuma	-	-	-
Taninos	Prueba de la gelatina	nd	-	+++
Cumarinas	Prueba de NH ₄ OH (luz UV)	-	-	-
Quinonas	Prueba de NH ₄ OH	-	-	-

+++ Muy abundante, ++ abundante, + presente en poca concentración; nd= no determinado

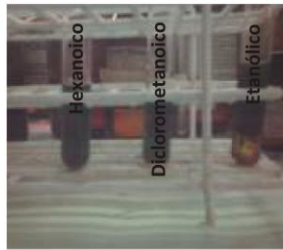





		
Esteroles y Terpenos	Compuestos fenólicos	Flavonoides
		
Saponinas	Taninos	Quinonas y cumarinas

Figura 19. Estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de *Cnidoscopus aconitifolius*.

Los resultados obtenidos en el estudio fitoquímico son similares a los reportados por Moura y col. (2019); Oliveira-Júnior y col. (2018); Kuri y col. (2017); Otitolaiye y Asokan (2016); Iwuji y col. (2016); Miranda y col. (2016); Jaramillo y col. (2016), Jaramillo y col. (2015); Iwuji y Nwafor (2015) y Achi y Ohaeri (2015), quienes reportaron en los extractos acuosos, hexanoicos, metanólicos y etanólicos, sobre todo de las partes aéreas de *Cnidoscopus aconitifolius*, recolectadas en diversos países como: Nigeria, México, Brasil, Guatemala y Ecuador, la presencia de alcaloides, flavonoides, fenoles, esteroles, diterpenos, triterpenos y taninos, sin embargo, a diferencia de los resultados mostrados en este estudio, revelaron además la presencia de saponinas, antraquinonas, cumarinas y sesquiterpenlactonas.

De igual forma, Echavarría y col. (2016), realizaron el estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Cnidoscolus aconitifolius* recolectada en Ecuador, y evidenciaron la presencia de taninos, pero por el contrario, no encontraron flavonoides, flavonas, antocianinas, polifenoles, triterpenos, sesquiterpenos, alcaloides, esteroides, cumarinas, saponinas, ligninas y antraquinonas. Existiendo diferencia con este estudio, en donde, el extracto etanólico si mostró la presencia de alcaloides, esteroides, terpenos, polifenoles, flavonoides y taninos.

Esta diferencia en cuanto a los metabolitos secundarios encontrados, puede deberse al hecho de que, en los diversos estudios, el material vegetal fue recolectado en distintas ubicaciones geográficas y posiblemente en diferentes épocas del año, con distintas condiciones climáticas, factores que pueden influir en la producción o concentración de los mismos. De igual manera, están involucrados otros factores como el genotipo de la planta, la etapa y edad del desarrollo, los estímulos mecánicos o ataques de patógenos (Gobbo-Neto y Lopes, 2007).

El clima influye en un momento determinado, en el crecimiento y desarrollo de las especies vegetales y en especial en la producción de sus metabolitos secundarios, ya que la luz, temperatura y precipitaciones fundamentalmente tienen un efecto marcado sobre su presencia. De manera que, la luz favorece el crecimiento de los tejidos jóvenes, etapa en la que se acumulan los principios activos; así mismo la temperatura influye en la producción de los mismos, al intervenir en el crecimiento acelerado y en el equilibrio entre el proceso de fotosíntesis y respiratorio; al igual que las precipitaciones, ya que el exceso o escasez de lluvia hacen que varíe el contenido de

los principios activos, además modifican los efectos ecológicos de otros factores, como por ejemplo, al regular las temperaturas (Acosta, 2003).

Las condiciones ambientales como falta de nutrientes y déficit de agua, pueden restringir el crecimiento de las plantas y reducir la velocidad fotosintética, condiciones que producen un aumento en la síntesis de sustancias de defensa como taninos condensados, ligninas y fenoles totales. Así mismo, el efecto de la radiación UV disminuye la biomasa de la planta y aumenta la cantidad de flavonoides pudiendo así, incrementar ésta la concentración de metabolitos (Valares, 2011).

Es por esto que, en cuanto a genética, se dan las variaciones inducidas por el ambiente, ya que si, plantas genéticamente idénticas crecen en regiones diferentes, hasta cierto punto, desarrollarán sus características de acuerdo al hábitat particular donde crezcan, lo que les permitirá hacer uso total de las cantidades de nutrientes, agua, o luz disponibles, o bien confiriéndoles un alto grado de protección contra factores adversos, como las temperaturas extremas, la sequía, los parásitos y los herbívoros (Valares, 2011).

Por otra parte, la edad y estado de desarrollo de la planta, también constituyen un aspecto de gran importancia en relación al contenido total de metabolitos secundarios, ya que algunas investigaciones han revelado que los tejidos más nuevos generalmente tienen mayor tasa biosintética de metabolitos como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, estilbenos, entre otros (Gobbo-Neto y Lopes, 2007). Así mismo, es importante mencionar que los metabolitos secundarios se producen y acumulan en distintas proporciones, dependiendo de las partes de las plantas utilizadas (Varón y Granados, 2012).

Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *Cnidoscolus aconitifolius*

Curva de calibración del ácido gálico.

Para la determinación del contenido de fenoles totales se realizó una curva de calibración utilizando como patrón el ácido gálico.

En la Tabla 13, se muestran las lecturas de absorbancia de las distintas concentraciones de ácido gálico.

Tabla 13.
Lectura de absorbancia de las distintas concentraciones de la solución de ácido gálico empleada como patrón

Concentración de Ácido gálico (mg/mL)	Absorbancia a 760 nm		
	λ_1	λ_2	λ_3
10	0,118	0,193	0,155
20	0,362	0,432	0,397
25	0,532	0,574	0,553
40	0,919	0,925	0,922
50	1,100	1,098	1,099

En el Gráfico 1, se muestra la curva de calibración del ácido gálico.

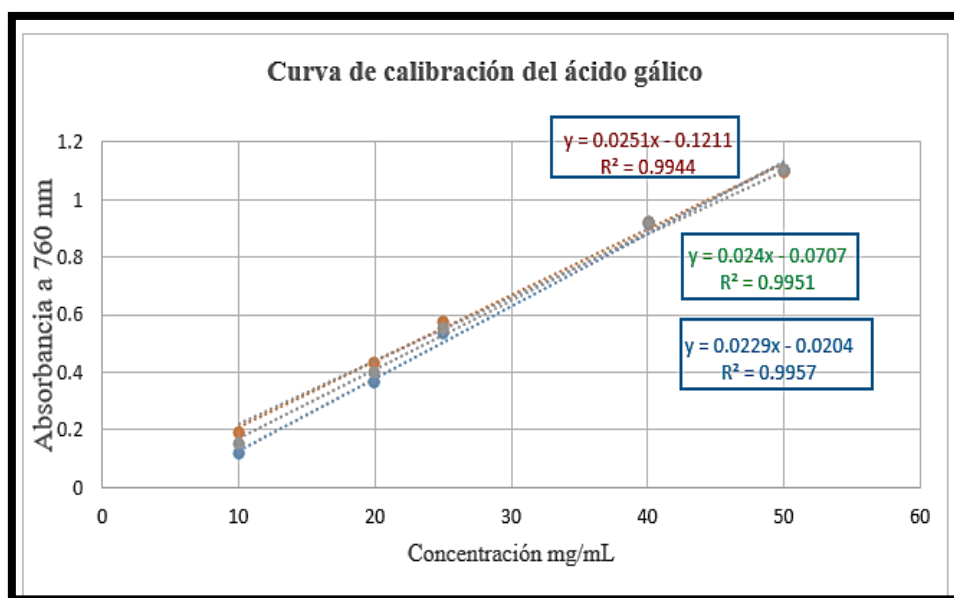


Gráfico 1. Curva de calibración del ácido gálico

Las curvas de calibración del ácido gálico, se realizaron por triplicado, y las correspondientes ecuaciones de la recta ($y = 0.0251x - 0.1211$, $R^2 = 0.9944$; $y = 0.024x - 0.0707$, $R^2 = 0.9951$; $y = 0.0229x - 0.0204$, $R^2 = 0.9957$), se emplearon para cuantificar el contenido total de fenoles en la muestra analizada. Los valores de absorbancia del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, fueron reemplazados en la ecuación, pudiéndose determinar el contenido total de fenoles en $\mu\text{g AG/mg}$ de extracto seco (Tabla 14). El contenido de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* fue $0,945 \pm 0,001$.

Tabla 14.

Cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*

Extracto	Concentración $\mu\text{g/mL}$	Absorbancia 760 nm			[] $\mu\text{g AG/mg}$ de extracto seco			[] $\mu\text{g AG/mg}$ de extracto seco \pm DE
		λ_1	λ_2	λ_3	C_1	C_2	C_3	
Etanólico	50	1,203	1,206	1,206	0,94	0,95	0,95	$0,945 \pm 0,006$
Blanco		0,046	0,046	0,046				

AG = ácido gálico

No existen diferencias estadísticamente significativa entre datos ($p > 0,05$), con un nivel de confianza de 95 %

Según los resultados obtenidos, se puede deducir que el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* contiene 0,945 µg AG/mg de extracto seco, teniendo en cuenta que la composición química de este extracto, evidenció la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos.

Godínez y col. (2019), obtuvieron como resultados de su estudio el valor más alto de compuestos fenólicos totales en el extracto de etanol-agua 80:20 de hojas crudas de *C. aconitifolius* (67,3 mg GAE/g de extracto liofilizado = 673 µg AG/mg de extracto liofilizado), seguido del extracto de etanol-agua 80:20 de hojas hervidas de *C. aconitifolius* (65,7 mg GAE/g de extracto liofilizado = 657 µg AG/mg de extracto liofilizado). Así mismo, el valor de compuestos fenólicos totales más bajo fue para el extracto etanol-agua 50:50 (v/v) de las hojas crudas de *C. aconitifolius* (53,8 mg GAE/g de extracto liofilizado = 538 µg AG/mg de extracto liofilizado).

Por lo que, los valores de fenoles totales, reportados en este estudio parecieran ser más bajos, sin embargo no es posible comparar directamente ya que, la cuantificación de fenoles totales en el aporte realizado por Godínez y col. (2019) se realizó en extracto hidroalcohólico y liofilizado mientras que en este estudio se realizó sobre extracto crudo seco.

De igual manera, Kuri y col. (2017) reportaron el contenido fenólico total de los extractos acuoso, etanólico, metanólico y hexanoico de las hojas de *C. aconitifolius*, los cuales fueron 15, 17 mg GAE/g de materia seca (151,7 µg AG/mg extracto), 5,6 mg GAE/g de materia seca (56 µg AG/mg extracto), 5,66 mg GAE/g de materia fresca (56,6 µg AG/mg extracto) y 22,3 mg GAE/g de materia seca (22,3 µg AG/mg extracto) respectivamente, encontrando que los componentes fitoquímicos más

prevalentes fueron los compuestos fenólicos entre los que están flavonoides, las cumarinas, los fenoles, taninos, antraquinonas y flobotaninos. Si bien en el presente estudio también hay presencia de polifenoles, flavonoides y taninos, el contenido de fenoles totales del extracto etanólico obtenidos pareciera ser más bajo ($0,945 \pm 0,001$ $\mu\text{g AG/mg}$ extracto seco), que los reportados por Kuri y col. (2017), es importante señalar que esta disparidad puede deberse a las diferencias ambientales, tratamiento de la muestra, diferentes disolventes y métodos, que pueden afectar la concentración de los compuestos fenólicos totales.

En referencia a lo anterior, los compuestos polifenólicos constituyen una clase de metabolitos secundarios biosintetizados por el reino vegetal, que comprenden un amplio rango de sustancias entre las que se encuentran los flavonoides, taninos, estilbenos, ácidos fenólicos, fenoles simples, cumarinas, ligninas, entre otros; y cuya cantidad y tipos presentes varían en función de la especie vegetal, variedad y parte del vegetal considerada (fruto, semillas, brotes, hojas), horas de exposición solar, grado de madurez, condiciones de cultivo, procesado y condiciones de almacenamiento, afirmación que pudiera explicar el hecho de que en este estudio se evidenció la presencia de ciertos compuestos fenólicos entre estos polifenoles, flavonoides y taninos, los cuales se relacionan a su vez con los valores obtenidos de fenoles totales (García y col. 2015).

Es posible mencionar que, las condiciones ambientales como la falta de nutrientes y déficit de agua, pueden restringir el crecimiento de las plantas y reducir la velocidad fotosintética, lo que puede explicar el aumento de síntesis de sustancias de defensas

como taninos condensados, lignina, fenoles totales, glicosidos de fenoles, entre otros, y afectar en consecuencia la concentración de polifenoles totales (Valares, 2011).

Estudio estadístico.

En la Tabla 15 se muestra el estudio estadístico de la cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* y en la Tabla 16, se muestra el análisis de varianza ANOVA.

Tabla 15
Estudio estadístico de la cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de C. aconitifolius.

Recuento	3
Promedio	0,946667
Desviación Estándar	0,0057735
Coficiente de Variación	0,609877 %
Mínimo	0,94
Máximo	0,95
Rango	0,01
Sesgo Estandarizado	-1,22474
Curtosis Estandarizada	

Tabla 16
Análisis de varianza de ANOVA de la cuantificación de fenoles totales del extracto etanólico de las partes aéreas de C. aconitifolius.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	0,0000166667	1	0,0000166667	0,33	0,6667
Residual	0,00005	1	0,00005		
Total	0,0000666667	2			

La variable independiente es absorbancia a 760 nm.
La variable dependiente concentración en µg AG/mg de extracto.

La Tabla ANOVA descompone la varianza de μg de ácido gálico/mg extracto en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro de grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0,333333, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05 no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de μg de ácido gálico/mg extracto entre un nivel de Absorbancia 750 nm y otro, con un nivel del 95,0 % de confianza.

Actividad antioxidante de los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* por el método DPPH

La actividad antioxidante fue determinada por el método DPPH, para tal fin, se realizó un barrido inicial a los extractos de las partes aéreas de *C. aconitifolius* con el fin de conocer si estas tenían potencial antioxidante.

En la Tabla 17 se muestran los resultados del barrido inicial de los extractos de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, a una concentración de 4 mg/mL por el método DPPH a 517 nm.

Tabla 17
Determinación del potencial antioxidante de los extractos de las partes aéreas de C. aconitifolius, a una concentración de 4 mg/mL por el método DPPH a 517 nm.

Extracto	λ_1	λ_2	λ_3	λ media	% Inhibición
Hexanoico	0,589	0,589	0,589	0,589	16,5
Diclorometanoico	0,494	0,494	0,495	0,494	29,9
Etanólico	0,350	0,350	0,350	0,350	50,4
DPPH	0,705	0,705	0,705	0,705	

Cálculos del porcentaje de inhibición:

$$\% I = \frac{\text{Absorbancia DPPH} - \text{Absorbancia Muestra}}{\text{Absorbancia DPPH}} \times 100 \%$$

Extracto hexanoico

$$\% I = \frac{0,705 - 0,589}{0,705} \times 100 \% = 16,5 \%$$

Extracto diclorometanoico

$$\% I = \frac{0,705 - 0,494}{0,705} \times 100 \% = 29,9 \%$$

Extracto etanólico

$$\% I = \frac{0,705 - 0,350}{0,705} \times 100 \% = 50,4 \%$$

Se procedió a hacer el estudio de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, ya que mostró un porcentaje (%) de inhibición por encima del 50 %, sin embargo, se descartaron los extractos hexanoico y diclorometanoico, ya que su % I fue menor al 50 %.

Curva patrón del ácido ascórbico.

En la Tabla 18, se muestran los resultados de % inhibición correspondiente a la curva patrón del ácido ascórbico.

Tabla 18
Curva patrón de ácido ascórbico.

[] $\mu\text{g/mL}$	Absorbancia			Promedio λ	DE	% Inh.
	λ_1	λ_2	λ_3			
176	0,022	0,022	0,029	0,024	0,0	95,6
100	0,044	0,038	0,031	0,038	0,01	93,9
75	0,16	0,162	0,172	0,165	0,01	73,4
50	0,271	0,304	0,291	0,289	0,02	53,4
25	0,461	0,463	0,456	0,460	0,0	25,7
DPPH	0,62	0,619	0,619	0,619	0,0	
Blanco	0,062	0,061	0,067			

En el gráfico 2, se muestra la curva de calibración del ácido ascórbico.

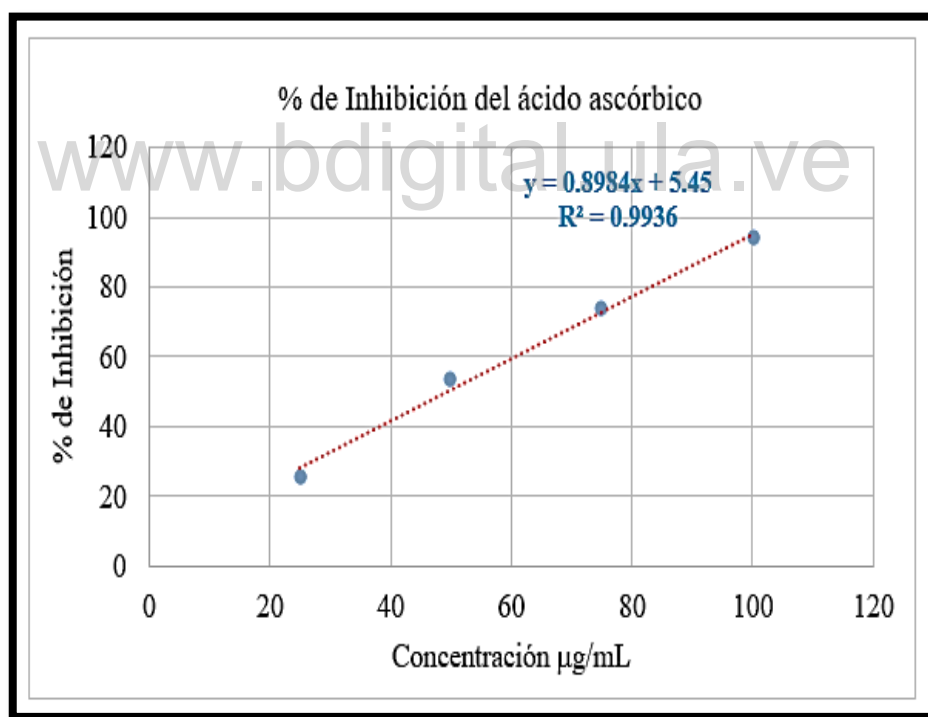


Gráfico 2: Porcentaje de inhibición (% I) del ácido ascórbico.

Porcentaje de inhibición del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*

La actividad antioxidante se determinó en el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, a través del método DPPH, en la Tabla 19, se muestran los resultados de % de Inhibición del radical DPPH, obtenidos del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*.

Tabla 19
Actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de C. aconitifolius.

Concentración (mg/mL)	% I Extracto etanólico
0.031	23,2 ± 0,3
0.063	24,0 ± 0,7
0.125	26,4 ± 0,1
0.250	28,5 ± 0,0
0.500	30,7 ± 0,2
1.0	37,4 ± 0,1

Existen diferencias estadísticas significativas entre datos ($p > 0,05$), con un nivel de confianza de 95 %

Según los resultados, se puede decir que la capacidad antioxidante del extracto etanólico es moderada ya que, a su máxima concentración de dilución el porcentaje de inhibición fue de $37,4 \pm 0,1$ %, a una concentración de 1 mg/mL, en comparación de 95,6 % del ácido ascórbico a la concentración de 0,176 mg/mL, utilizado como control positivo (Gráfico 3).

En el Gráfico 3, se muestra el porcentaje de inhibición (% I) del radical DPPH, por los componentes químicos presentes en el extracto etanólico de las partes

aéreas de *C. aconitifolius*, comparado con el %I del ácido ascórbico a la concentración de 0,176 mg/mL.

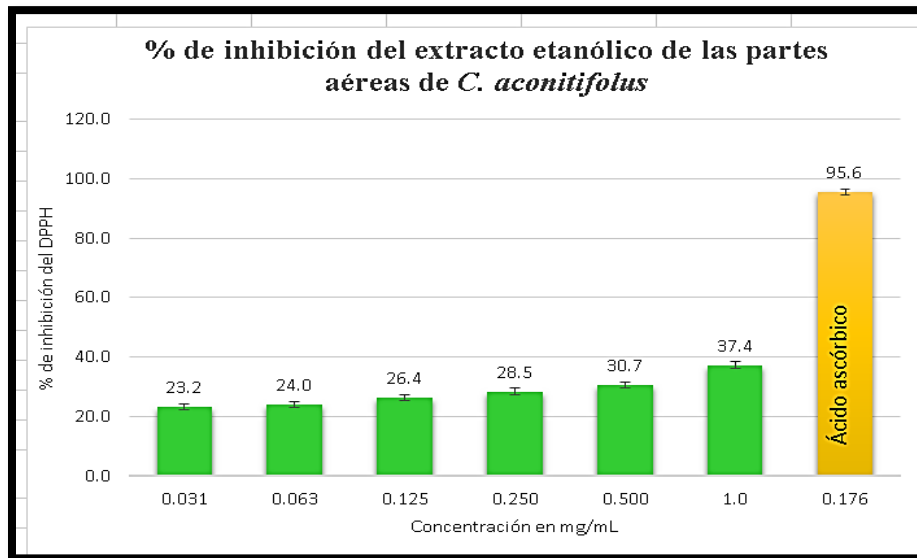


Gráfico 3. Porcentaje (%) de Inhibición del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*.

Los resultados de este estudio difieren en cierta medida con los obtenidos por Somade y col. (2020), quienes evaluaron el potencial antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *C. aconitifolius*, y reportaron por el método DPPH un porcentaje de inhibición de 57,4 % a una concentración de 25 mg/mL, lo que relacionaron con los compuestos químicos que obtuvieron en su estudio, ya que aproximadamente la mitad de los mismos eran compuestos fenólicos.

Sin embargo, este aspecto coincide con el presente estudio ya que, en el extracto etanólico también hubo presencia de polifenoles, taninos y flavonoides, y es conocido que los fenoles generalmente actúan como antioxidantes al atrapar o inhibir la producción de radicales libres, mientras que los flavonoides pueden eliminar los

radicales libres y también quelar iones metálicos de transición como el hierro o el cobre, evitando así la formación de las especies reactivas de oxígeno (Martin, 2018).

De igual manera Godínez y col. (2019), determinaron la actividad antioxidante de los extractos de metanol-agua (50:50 y 80:20) y de etanol-agua (50:50 y 80:20) provenientes de hojas crudas y hervidas de *Cnidocolus aconitifolius*, siendo el extracto etanol-agua 80:20 (v/v) de hojas hervidas el que mostró la mayor actividad antirradicales con un porcentaje de inhibición de 89 ± 1 , existiendo diferencia con el resultado obtenido en este estudio, que podría deberse entre otras causas, al tratamiento de la muestra. Según Godínez y col. (2019), existe una fuerte correlación positiva entre la capacidad antioxidante evaluada por el método DPPH y el contenido fenólico total, lo que indica que los compuestos fenólicos podrían ser uno de los componentes principales responsables de la donación de hidrógeno (inhibición de los radicales DPPH).

Por otra parte, Moura y col. (2019) y Oliveira-Júnior y col. (2018), realizaron respectivamente una revisión sistemática de los aspectos farmacológicos y químicos de *Cnidocolus*, revelando, la gran variedad de metabolitos secundarios que se encuentran en las diversas partes de estas plantas, y que han sido aislados de distintos tipos de extractos, principalmente acuosos y alcohólicos, siendo esos metabolitos los responsables de las diversas actividades biológicas que se les atribuyen, entre estas la actividad antioxidante.

Kuri y col. (2017), reportaron la capacidad antioxidante de los extractos etanólico y hexanoico de las hojas de *C.aconitifolius* por el método DPPH, siendo de 10,6 % de inhibición y 10,5 % de inhibición a una concentración de 33 mg/mL

respectivamente, encontrando que los compuestos químicos predominantes fueron los compuestos fenólicos, entre estos los flavonoides, fenoles, taninos, antraquinonas y flobotaninos.

Así mismo, Jaramillo y col. (2015) evaluaron la actividad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *C. aconitifolius*, a través de determinaciones del potencial de reducción total (FRAP), de glutatión reducido y organoperóxidos totales, obteniendo como resultados por el método FRAP 81,6 μM a una concentración del extracto de 0,5 mg/mL, los cuales no se consideraron significativos en cuanto al poder reductor por lo que, se puede plantear que en este ensayo *C. aconitifolius*, no evidenció potencialidades como antioxidante. El aporte del extracto en cuanto a organoperóxidos totales es muy bajo, 24,8 μM a una concentración de 0,8 mg/mL, resultado satisfactorio ya que los altos niveles de organoperóxidos en los extractos vegetales, puede ser un elemento a tener en cuenta a la hora de limitar sus usos clínicos y, en cuanto al aporte de grupos $-\text{SH}$ no proteicos del extracto, se pudo apreciar el significativo aporte que realiza el mismo en cuanto a estos grupos se refiere, ya que el resultado obtenido para este parámetro de 6570 mg/L a una concentración del extracto de 0,12 mg/mL evidencia la presencia en el extracto de compuestos con grupos $-\text{SH}$ no proteicos como por ejemplo el GSH, que garantizan efectos antioxidantes importantes.

En relación a lo mencionado anteriormente, se puede decir que a pesar de que en este estudio se evidenció la presencia de compuestos fenólicos entre estos flavonoides, polifenoles y taninos, en el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, este no mostró actividad antioxidante significativa al compararse con

los estudios realizados previamente en esta especie, pudiendo deberse a que, la capacidad antioxidante relativa de muchos compuestos presentes en las muestras de plantas varía ampliamente según el tipo de ensayo de prueba, que puede diferir en términos de sustratos, condiciones de reacción y metodología aplicada (Godínez y col., 2019).

De igual forma, los estudios indican que la capacidad antioxidante en una especie vegetal no viene dada sólo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada tipo de metabolito presente, también depende del microambiente en el que se encuentre el compuesto, pudiendo interactuar entre sí, produciéndose efectos sinérgicos o inhibitorios, lo que también podría explicar los resultados obtenidos en esta investigación, pero en general se puede decir que los extractos que tienen un alto porcentaje de capacidad antioxidante presentan gran contenido fenólico (Echavarría y col. 2016).

Concentración eficiente 50 (IC₅₀) en mg/mL, (n =3) del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*

En este estudio cabe aclarar, que la determinación de la concentración eficiente 50 (mg/mL) del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, se calculó a partir de la ecuación de la recta $y = ax + b$, donde “a” es la pendiente; “b” la intersección de corte en la recta, $y = 50$ y $x = IC_{50}$. En la Tabla 20, se muestra los valores de IC₅₀ (n = 3), para el extracto etanólico.

Tabla 20.

IC₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de C. aconitifolius.

Extracto	Recta	Pendiente	corte	R ²	IC ₅₀ mg/mL	IC ₅₀	DE
Etanólico	1	24,2330	13,3410	0,9920	1,51	1,51	0,01
	2	25,1340	12,1320	0,9980	1,51		
	3	24,1400	13,2320	0,9940	1,52		

Según Godínez y col. (2019), la IC₅₀ es una medida de la potencia de una sustancia para inhibir una función biológica o bioquímica específica, es decir disminuye en un 50 % la concentración inicial de DPPH, por que la misma se determina mediante los valores obtenidos mediante este ensayo. En su estudio los autores reportaron la IC₅₀ de varios extractos liofilizados de *C. aconitifolius*: del extracto de metanol-agua 50:50 de hojas crudas y hervidas, 44,9 y 45,0 µg/mL (0,449 y 0,450 mg/mL); del extracto de metanol-agua 80:20 de hojas crudas y hervidas, 41,3 y 44,0 µg/mL (0,413 y 0,44 mg/mL); del extracto de etanol-agua 50:50 de hojas crudas y hervidas, 86,0 y 40,0 µg/mL (0,86 y 0,40 mg/mL) y del extracto etanol-agua 80:20 de hojas crudas y hervidas, 37,7 y 30,1 µg/mL (0,377 y 0,301 mg/mL) respectivamente.

En este estudio la concentración eficiente 50, en mg/mL del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, para captar radicales libres es de 1,51 mg/mL, siendo importante señalar que no es posible comparar directamente con los resultados obtenidos por Godínez y col. (2019) debido a que, su estudio fue realizado en extractos hidroalcohólicos y liofilizados mientras que el presente se realizó sobre extracto crudo seco.

Sin embargo, Echavarría y col. (2016), establecen en su estudio que, de acuerdo con los datos del IC₅₀, existe una relación inversamente proporcional entre la IC₅₀ y la actividad antioxidante, es decir, a menor valor del IC₅₀ mayor actividad anti radical y viceversa.

Estudio estadístico.

En la Tabla 21 se muestra los datos estadísticos de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolus*.

Tabla 21.
Datos estadísticos de la actividad antioxidante del extracto etanólico, de las partes aéreas de C. aconitifolus.

	% de inhibición	Concentración mg/mL
Recuento	6	6
Promedio	28,3667	0,328167
Desviación Estándar	5,22864	0,370647
Coficiente de Variación	18,4323%	112,945%
Mínimo	23,2	0,031
Máximo	37,4	1,0
Rango	14,2	0,969
Sesgo Estandarizado	1,09353	1,4998
Curtosis Estandarizada	0,518057	0,937865

En la Tabla 22, se muestran los análisis de varianza ANOVA de una sola vía de la actividad antioxidante del extracto etanólico, de las partes aéreas de *C. aconitifolus*.

Tabla 22.

Análisis de varianza ANOVA de una sola vía de la actividad antioxidante del extracto etanólico, de las partes aéreas de C. aconitifolius.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	136,693	5	27,3387		
Residual	0	0			
Total	136,693	5			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La variable independiente es concentración (mg/mL).

La variable dependiente % de inhibición (% I).

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de % de inhibición en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre % de inhibición con un 95,0 % de nivel de confianza.

Toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* frente a *Artemia salina*

En la Tabla 23, se muestran los resultados promisorios del bioensayo de letalidad en *Artemia salina*, aplicado al extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* y los controles.

Tabla 23

Cuantificación de la DL₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de C. aconitifolius y los controles frente a Artemia salina.

Extractos	DL ₅₀ (ppm)	Límite de confianza (95 %) ppm		Categoría según el CYTED
		Límite inferior	Límite superior	
Partes aéreas	2913,55	-	-	Relativamente inocuo
DMSO	-	-	-	Inocuo
DDSS	28,026	23,372	33,507	Altamente tóxico

DL50: Dosis letal 50; signo (-) valores muy altos; DMSO: Dimetilsulfoxido DDSS: Dodecil sulfato de sodio

En el gráfico 4, se muestra el porcentaje (%) de Letalidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* frente a *Artemia salina* a las concentraciones probadas en unidades de ppm ($\mu\text{g/mL}$).

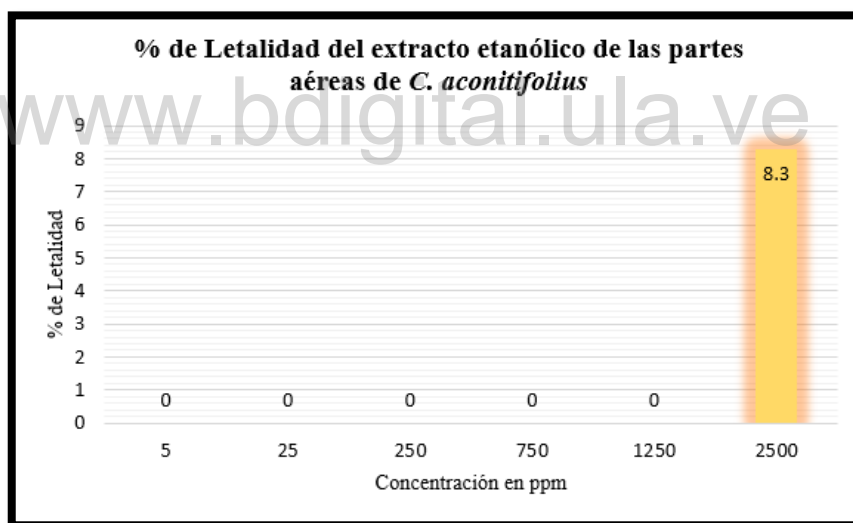


Gráfico 4. Porcentaje (%) de Letalidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* frente a *Artemia salina* a las concentraciones probadas en unidades de ppm ($\mu\text{g/mL}$).

Los resultados obtenidos en el presente estudio de la toxicidad del extracto etanólico de *C. aconitifolius* frente a *A. salina* se asemejan a los reportados por Miranda y col. (2016), quienes también evaluaron la toxicidad de tres extractos (acuoso, etanólico y metanólico) obtenidos de *C. chayamansa* y *C. aconitifolius*,

sobre *A. salina*, mostrando una $DL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ para los tres extractos, de tal manera que siguiendo los criterios de toxicidad implementados, determinaron que los extractos probados no eran tóxicos; este resultado es similar a este estudio, donde se obtuvo una $DL_{50} > 1500 \mu\text{g/mL}$, que indicó que el extracto es relativamente inocuo.

Sin embargo, el presente estudio difiere a lo reportado por Miranda y col. (2016), en cuanto a los compuestos químicos encontrados ya que, en su extracto etanólico solo determinaron la presencia de alcaloides, mientras que en este estudio hubo presencia de esteroides, terpenos, polifenoles, flavonoides y taninos, además de alcaloides; exceptuando la presencia de cumarinas que no fueron detectadas en ninguno de los dos trabajos.

Así mismo, a diferencia del resultado obtenido en este estudio, Jaramilo y col. (2016) reportaron que el extracto etanólico de *C. aconitifolius* es altamente tóxico al realizar el bioensayo sobre *A. salina*, presentando una concentración letal 50 (CL_{50}) de $74,34 \mu\text{g/mL}$, lo que relacionaron con los compuestos químicos que determinaron, los cuales fueron alcaloides, fenoles, taninos, glucósidos cianogénicos y saponinas; al contrario de este estudio, en el que se determinaron alcaloides, fenoles y taninos, pero no saponinas. Siendo esta quizás la razón, por la que exista disparidad en cuanto a la toxicidad de esta especie.

En cuanto a esto, las plantas medicinales contienen gran variedad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales son responsables de sus propiedades beneficiosas, sin embargo otros pueden ser tóxicos, pudiendo provocar efectos graves en los organismos vivos (Ochoa y Sarmiento, 2018). Es así pues que, Jaramillo y col. (2016) determinaron las concentraciones de alcaloides, fenoles totales, taninos, glucósidos

cianogénicos y saponinas en distintas especies vegetales y las correlacionaron con el efecto citotóxico sobre el crustáceo *Artemia salina*, observando que a mayor concentración de alcaloides en los extractos estudiados, los mismos fueron extremadamente tóxicos, aspecto que concuerda con lo reportado por Bun y col. (2009), quienes indicaron que altas concentraciones de alcaloides aumentan la toxicidad de las plantas.

Jaramillo y col. (2016) también observaron que, a mayor concentración de polifenoles y taninos, el nivel de letalidad de las plantas disminuyó significativamente, además las saponinas aparentemente presentaban sinergia con los polifenoles para disminuir la toxicidad, pero tuvieron un efecto antagónico con los alcaloides, lo cual evidencia que estos metabolitos secundarios presentan variabilidades en los mecanismos de acción contra *A. salina*, como compuestos citotóxicos. Así mismo, revelaron que bajas concentraciones de saponinas pueden ser letales, lo que también podría explicar la baja toxicidad obtenida en el presente estudio ya que, no se detectó presencia de saponinas en el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*.

Por lo que se podría decir, en relación a lo expuesto anteriormente que la toxicidad frente a *A. salina* no solo depende de la presencia de ciertos metabolitos secundarios, sino además de la concentración y la posible interacción entre los mismos.

CAPÍTULO V

Conclusiones

- El estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, demostró la presencia de: Esteroles en los extractos hexanoico y diclorometanoico y alcaloides, esteroles, terpenos, polifenoles, flavonoides y taninos en el extracto etanólico.
- El contenido de fenoles totales, en el extracto etanólico de las hojas de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, fue de 0,945 µg AG/mg.
- El porcentaje de inhibición (% I) del radical DPPH, del extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, fue de 37,4 % a la concentración de 1 mg/mL.
- El valor de IC₅₀ obtenido en el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius* fue 1,51 mg/mL.
- El extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*, fue relativamente inocuo frente a *Artemia salina* según los criterios de el CYTED, así mismo el porcentaje (%) de Letalidad a la concentración mas alta evaluada (2500 ppm) fue de 8,3 %.

Recomendaciones

- Para completar el estudio se recomienda hacer la determinación del contenido de flavonoides totales presentes en el extracto etanólico de las partes aéreas de *C. aconitifolius*.

www.bdigital.ula.ve

Referencias bibliográficas

- Achi, N. y Ohaeri, O. (2015). GC-MS Determination of Bioactive Constituents of the Methanolic Fractions of *Cnidoscolus aconitifolius*. *BJPR*, 5 (3), 163-172.
- Acosta, L. (2003). Principios agroclimáticos básicos para la producción de plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 8 (1). Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10284796200300100008
- Ainsorth, E. y Gillespie, K. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2 (4), 875-877.
- Aldana, C. y Guayasamín, L. (2014). Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y caracterización química de los polifenoles. (Trabajo de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Ecuador.
- Albornoz, A. (2001). *Medicina Tradicional Herbaria*. Caracas, Venezuela: Instituto Farmacoterapico Latino S.A. Caracas Venezuela: 1-564.
- APG II. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141, 399 - 436.
- Amaya, L. y Portillo, C. (2013). Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible. (Trabajo de pregrado). Universidad de El Salvador, El Salvador.

- Arias, F. (2006). Mitos y errores en la elaboración de Tesis y proyectos de investigación. Caracas, Venezuela: Episteme.
- Ávalos, A., Y Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal, 2 (3): 119-145. Recuperado de: <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798>
- Azeez, O., Oyagbemi, A., Oyeyemi, M. y Odetola, A. (2010). Ameliorative effects of *Cnidioscolus aconitifolius* on alloxan toxicity in Wistar rats. Afr Health Sci, 10 (3), 283–291. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3035966/>
- Babalola, J. y Alabi, O. (2015). Effect of processing methods on nutritional composition, phytochemicals, and anti-nutrient properties of chaya leaf (*Cnidioscolus aconitifolius*). African Journal of Food Science, 9 (12), 560-565.
- Bermejo, A., Pereira, S., Cintra, M. y Morales, G. (2014). Determinación de parámetros químico- físico de las tinturas al 20% obtenidas de las hojas, tallos y frutos de *Melia azedarach* L (Pursiana). Rev haban cienc méd, 13 (5). Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2014000500004
- Bittner, M., Alarcón, J., Aqueveque, P., Becerra, J., Hernández, V., Hoeneisen, M. y Silva, M. (2001). Estudio químico de especies de la familia Euphorbiaceae en Chile. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 46 (4), 419-431
- Bohórquez, R. (2016). Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostephium phyllicoides* (Kunth) Wedd. (Trabajo de pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A, Bogotá.

- Bun, S., Laget, M., Chea, A., Bun, H., Ollivier, E., y Elias, R. (2009). Cytotoxic activity of alkaloids isolated from *Stephania rotunda*. *In vitro* cytotoxic activity of cepharanthine. *Phytotherapy Research*, 23, 587-590.
- Carrión, A. y García, C. (2010). “Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica”. (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Chase, M. W. y Reveal, J. L. (2009). A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 122 - 127.
- Difurnó, J.L., Lorente, C., Frías, J.A., Ocaña, J. y Ramírez, R. (2012). Efecto antibacteriano de plantas de la flora cubana en Granma. *Multimed*, 16 (1), 733-745. Recuperado de: <http://www.revmultimed.sld.cu/index.php/mtm/article/view/633>
- Dumitrascu, M. (2011). *Artemia salina*. *Balneo-Research Journal*, 2 (4), 119-122.
- Durán, M., Gaitán, R. y Olivero, J. (2013). Búsqueda en bases de datos de actividad biológica de moléculas quinoides. *Revista Cubana de Información en Ciencias de la Salud*, 24 (4), 416-430. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_artext&pid=S23072113201300400005
- Echavarría, A., D´Armas, H., Matute, N., Jaramillo, C., Rojas de Astudillo, L. y Benítez, R. (2016). Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. *Revista Ciencia UNEMI*, 9 (20), 29-35. doi: 10.29076/issn.2528-7737vol9iss20.2016pp29-35p

- Echavarría, B., Franco, A. y Martínez, A. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del Caribe colombiano. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, 16 (1), 126-131. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169815393014>
- El shahhat Saad, M. (2015). Plantas medicinales en el antiguo Egipto. (Trabajo de pregrado). Universidad de Barcelona, España.
- García, L., Martínez, A., Ortega, J. y Castro, F. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Química Viva*, 9 (2), 86-96. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oaid=86314868005>
- García, E., Fernández, I. y Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10251/52056>
- Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM*, 23 (6), 80-84.
- Goobo-Neto, L. y Lopes, N. (2007). Plantas Mediciniais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, 30 (2), 374-381.
- Godínez, R., Chávez J., Guzmán, S. y García, T. (2019). Caracterización fenólica y capacidad antioxidante de extractos alcohólicos de hojas crudas y hervidas de *Cnidoscolus aconitifolius* (Euphorbiaceae). *Act. Bot. Mex*, 126, 1-15.

- Heisler, E., Budó, M., Schimith, M., Badke, M., Ceolin, S. y Heck, R. (2015). Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. *Enferm. glob.*, 14 (39), 390-403. Recuperado de: scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412015000300018
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2010). *Metodología de la investigación*. México: McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V.
- Iwuji, S., Egenonu, C., Ndubuka, G., Azeez, T., Ekezie, J., Dozie, I. y Ohadoma, S. (2016). Phytochemical Constituents and Antibacterial Activities of Aqueous and Hydromethanolic Leaf Extracts of Chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*). *FUTOJNLS*, 2 (1), 195 – 204.
- Iwuji, S. y Nwafor, A. (2015). Phytochemical Identification in the Chloroform Fraction of Aqueous-Methanol Extract of *Cnidoscolus aconitifolius* Leaves. *BJPR*, 5 (6), 437-441.
- Jaramillo, C., García, V., Cuesta, O., Campo, M. y García, G. (2015). Fitoquímica preliminar, actividad antioxidante e hipoglucemiante de extractos de hojas de *Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) I. M. Johnst (chaya). *Rev Cubana Farm*, 49 (3), 543-556. Recuperado de: scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152015000300014
- Jaramillo, C., Jaramillo, A., D' Armas, H., Troccoli, L. y Rojas, L. (2016). Concentraciones de alcaloides, glucósidos cianogénicos, polifenoles y saponinas

en plantas medicinales seleccionadas en Ecuador y su relación con la toxicidad aguda contra *Artemia salina*. *Rev. Biol. Trop.*, 64 (3), 1171-1184.

Jiménez, A., Sánchez, M. y Martínez, M. (2012). Optimización del método captación del radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café. *AN. VET. (MURCIA)* 28, 67-78. Recuperado de: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4543453>

Jiménez, C. (2013). El papel de los productos naturales en el mercado farmacéutico actual. *An. Quím.*, 109 (2), 134–141. Recuperado de: [Dialnet-ElPapelDeLosProductosNaturalesEnElMercadoFarmaceut-4335240.pdf](https://dialnet-elpaperdelosproductosnaturalesenelmercadofarmaceut-4335240.pdf)

Jiménez, M., García, I. y Rojas, S. (2014). Potencial biológico de especies medicinales del género *Cnidoscolus* (Euphorbiaceae). *Rev Mex Cienc Farm*, 45 (4), 19-24. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.phpscript=sci_arttext&pid=S1870195201404003

Kuri, A., Chávez, J. y Guzmán, S. (2017). Phenolic profile and antioxidant capacity of *Cnidoscolus chayamansa* and *Cnidoscolus aconitifolius*: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11 (45), 713-727. DOI: 10.5897/JMPR2017.6512

Lapenna, E.A., Medina, G.E., Díaz, L., Aguilón, K. y Marín, H. (2003). Actividad bactericida y fungicida de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional venezolana. *INHRR*, 34 (1), 6-9.

Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Organica*. 2º edición. Consejo de desarrollo humanístico, Universidad Central de Venezuela, p.80.

- Martínez, C.A. (2014). Identificación de flavonoides con actividad antioxidante presentes en *Alchornea coelophylla* (Euphorbiaceae). (Trabajo de pregrado). Universidad Tecnológica de Pereira, Colombia.
- Martin, D. (2018). Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigacion Agraria y Ambiental*, 9 (1), 81-104.
- Maya, C. y Agudelo, C. (2009). Estudio Taxonómico de la familia Euphorbiaceae en el Quindío. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias*, 21 (1), 156-173. Recuperado de: http://camayal.info/pdf/Maya-L_&_Agudelo_2009.pdf
- Mesa, A., Zapata, S., Arana, L., Zapata, I., Monsalve, Z. y Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14 (1), 1-10. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845001>
- Miranda, L.G., Núñez, M. y Rodríguez, J.A. (2016). Utilización de un método In vitro para evaluar la toxicidad de chaya, una planta nutritiva utilizada en medicina tradicional para la disminución del colesterol. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1 (1), 546-550. Recuperado de: www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/4/94.pdf
- Mogollón, J. A., Rondón, M. E., Morales, A. y Contreras, B. Z. (2016). Estudio fitoquímico y actividad antioxidante de los extractos de las partes aéreas de

Euphorbia laurifolia Juss. ex Lam. *Revista de la Facultad de Farmacia*, 58 (1), 23-31. Recuperado de:

<http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/1234678/429/articulo3.pdfsequence>

Moura, L., Neto, J., Pereira, T., Benjamin, S., Rodrigues, F., Alves, F., Pereira, E., de Oliveira, D., Florindo, M. (2019). Ethnobotanic, phytochemical uses and ethnopharmacological profile of genus *Cnidocolus* spp. (Euphorbiaceae): A comprehensive overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109, 1670-1679.

Muñoz, M. y Gutiérrez, D. (2009). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana glauca*. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Queretaro.

Mwine, J. T. y Van Damme, P. (2011). Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (5), 652-662.

Ochoa, L. y Sarmiento, A. (2018). Estudio Fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L. f.) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica. (Trabajo de Grado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Colombia.

Oliveira-Júnior, R., Alves, C., Oliveira, A., Souza, C., Feitosa da Silva, L., Picot, L., Araújo, L., Rolim-Neto, P., y Guedes da Silva, J. (2018). Phytochemical and pharmacological aspects of *Cnidocolus* Pohl species: A systematic review. *Phytomedicine*, 50, 137-147.

- Onasanwo, S., Oyagbemi, A. y Saba, A. (2011). Anti-inflammatory and analgesic properties of the ethanolic extract of *Cnidoscolus aconitifolius* in rats and mice. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 22 (1-2), 37-41.
- Orozco, A. (2013). Caracterización farmacobotánica de tres poblaciones del género *Cnidoscolus* (chaya) con fines de cultivo y comercialización. (Trabajo de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Otolaiye, C. y Asokan, C. (2016). GC-MS Analysis of *Cnidoscolus aconitifolius* Leaf Aqueous Extracts. *IJSR*, 5 (8), 471-475.
- Pallela, S. y Martins, F. (2012). Metodología de la investigación cuantitativa. Caracas, Venezuela: Fondo Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador.
- Pascual, D., Pérez, Y., Morales, I., Castellanos, I. y González, E. (2014). Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. *MEDISAN*, 18 (10), 1467-1474. Recuperado de: <http://scielo.sld.cu/pdf/san/v18n10/san191810.pdf>
- Pino, O. y Jorge, F. (2010). Ensayo de *Artemia*: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Rev. Protección Veg.*, 22 (1), 34-43. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S101275220100010008

- Prieto, S., Garrido, G., González, J.A. y Molina, J. (2004). Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 35 (1) ,19-36.
Recuperado de: <http://www.redalyc.org/pdf/1812/181226086004.pdf>
- Ramírez, I. y Villalobos, D. (2008). *Ciencia*, 16 (1), 20-24. Recuperado de:
<http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9822/9809>
- Ramos, E., Castañeda, B. e Ibáñez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *REV ACAD PERU SALUD*, 15 (1), 42-46. Recuperado de:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rev_academia/2008_n1/pdf/a1v15n1.pdf
- Rampadarath, S., Puchooa, D. y Jeewon, R. (2016). *Jatropha curcas* L: Phytochemical, antimicrobial and larvicidal properties. *Asian Pac Trop Biomed*, 6 (10), 858-865.
- Rascón, L., Jiménez, M., Velázquez, C., Garibay, A., Vilegas, W., Campaner, L., Coqueiro, A., Robles, R.E. (2015). Chemical composition and antiproliferative activity of *Acalypha californica*. *Industrial Crops and Products*, 69, 48–54.
- Ringuelet, J. y Viña, S. (Ed). 2013. *Productos naturales vegetales*. Buenos Aires, Argentina: Editorial de la Universidad de La Plata.
- Rojas, L., Jaramillo, C. y Lemus, M. (2015). *Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios de plantas*. Recuperado de:
<http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/6653>

- Ross, J. y Molina, A. (2002). "The Ethnobotany of Chaya (*Cnidoscolus* spp. *aconitifolius* Breckon): A nutritious Maya Vegetable". *Economic Botany*, 56 (4), 350-365. Recuperado de: http://www.rilab.org/pdfs/Ross-Ibarra_Molina-Cruz-2002.pdf
- Rugiero, L. (2017). Cuantificación de antioxidantes contenidos en el café (*Coffea arabica*) verde y tostado procedente de Veracruz. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Seebaluck-Sandoram, R., Lall, N., Fibrich, B., Blom van Staden, A. y Mahomoodally, F. (2017). Antibiotic-potentiating activity, phytochemical profile, and cytotoxicity of *Acalypha integrifolia* Willd. (Euphorbiaceae). *Journal of Herbal Medicine*, 11, 53-59.
- Sierra, M., Barros, R., Gómez, D., Mejía, A. y Suarez, D. (2018). Productos naturales: metabolitos secundarios y aceites esenciales. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/334656228_PRODUCTOS_NATURALES_METABOLITOS_SECUNDARIOS_Y_ACEITES_ESENCIALES
- Smith, N., Mori, S., Henderson, A., Stevenson, D. y Heald, S. (2004). Flowering plants of the neotropics. New Jersey, USA: Princenton University Press.
- Somade, O., Akinloye, O., Ugbaja, R. e Idowu, M. (2020). *Cnidoscolus aconitifolius* leaf extract exhibits comparable ameliorative potentials with ascorbate in dimethylnitrosamine-induced bone marrow clastogenicity and hepatotoxicity. *Clinical Nutrition Experimental*, 29, 36-48.

- Terán, J. (2011). Aislamiento y caracterización de los metabolitos secundarios mayoritarios de los extractos de cloroformo y cloroformo: metanol (8:2) de hojas de *Cnidocolus chayamansa*. (Trabajo de pregrado). Universidad Central de Venezuela, Venezuela.
- Valares, C. (2011). Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. (Trabajo de doctorado). Universidad de Extremadura, España.
- Varón, L. y Granados, J. (2012). Interrelacion entre el contenido de metabolitos secundarios de las especies *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia* y algunas propiedades fisicoquímicas del suelo. Bogotá, Colombia: Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).
- Wurdack, K. J. y Davis, C. C. (2009). Malpighiales phylogenetics: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. *American Journal of Botany*, 96 (8), 1551 - 1570.
- Wurdack, K. J., Hoffmann, P., & Chase, M. W. (2005). Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae sensu stricto) using plastid rbcL and trnL-F DNA sequences. *American Journal of Botany*, 92 (8), 1397 - 1420.
- Zeghad, F., Djilani, S, Djilani, A. y Dicko, A. (2016). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Three Euphorbia Species. *Turk J Pharm Sci*, 13 (1), 22-37.
- Recuperado de:

https://www.researchgate.net/publication/281571531_Antimicrobial_and_Antioxidant_Activities_of_Three_Euphorbia_Species

Zenil, N., Colinas, M., Bautista, C., Vázquez, T., Lozoya, H. y Martínez, M. (2014). Fenoles totales y capacidad antioxidante estimada con los ensayos DPPH/ABTS en rosas en soluciones preservantes. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.*, 5 (6), Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200709342014060

www.bdigital.ula.ve